



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE**

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**MIKROELEKTRODOVÁ POLE PRO BIOELEKTRONIKU**

MICROELECTRODE ARRAYS FOR MIOELECTRONIC

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Aneta Bráblíková**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**doc. Ing. Ota Salyk, CSc.**

**BRNO 2019**

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1263/2018  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Studentka: **Bc. Aneta Bráblíková**  
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace  
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Ota Salyk, CSc.**  
Akademický rok: 2018/19

### Název diplomové práce:

Mikroelektrodová pole pro bioelektroniku

### Zadání diplomové práce:

1. Literární rešerše
2. Osvojení tiskových a litografických technik pro výrobu multivrstevných elektronických snímačů.

### Termín odevzdání diplomové práce: 10.5.2019

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

-----  
Bc. Aneta Bráblíková  
student(ka)

doc. Ing. Ota Salyk, CSc.  
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Organické elektronické biosenzory jsou vyvíjené jako vhodná zařízení, která dokážou přeměnit elektrochemické procesy uvnitř buněčné membrány na elektronický signál a umožňují sledovat aktivitu excitabilních buněk a tkání jak *in vitro*, tak *in vivo* a představují tak hodnotné doplnění k současným metodám monitorování buněčné aktivity. V rámci této práce se soustředíme na výrobu elektrofyziologických snímačů na bázi organických polovodičů tištěné metodou materiálového tisku. Aktivní součástí zařízení jsou mikroelektrodová pole (MEA), která jsou schopna nejen sledovat buněčnou aktivitu, ale rovněž dokážou buňky stimulovat elektrickými pulzy. Navržená platforma bude určena k testování cytotoxicity potenciálních léčiv, zejména na srdečních buňkách (kardiomyocytech). Experimentální část se zabývá konkrétními výrobními postupy platform, které byly připravovány v laboratoři s důrazem kladeným na biokompatibilitu a vodivost zařízení.

## **ABSTRACT**

Organic electronic biosensors are developed as suitable devices that can transform electrochemical processes within the cell membrane into an electronic signal and enable to measure electrical activity of excitable cells and tissues both *in vitro* and *in vivo* and thus represent valuable alternative to current cell monitoring methods. In this work we focus on the fabrication of electrophysiological sensors based on organic semiconductors printed by the material printing method. Microelectrode arrays (MEAs) are active components of the device, which can monitor cellular activity and above that stimulating cells with electrical pulses. The proposed platform should be used for cytotoxicity of potential drugs especially on cardiac cells (cardiomyocytes). The experimental part focus on specific production processes of platforms, which were prepared in the laboratory with emphasis on biocompatibility and conductivity of device.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

biosenzor, organická elektronika, tištěná elektronika, síťotisk, mikroelektrodová pole, elektrofyziologie, PEDOT:PSS

## **KEYWORDS**

biosensor, organic electronics, printed electronics, screen printing, microelectrode arrays, electrophysiology, PEDOT:PSS

BRÁBLÍKOVÁ, Aneta. *Mikroelektrodová pole pro bioelektroniku*. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/116051>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Ota Salyk.

## PROHLÁŠENÍ:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

-----  
podpis studenta

## Poděkování:

*Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce doc. Ing. Otě Salykovi Csc. za ochotu, odborný dohled a vedení mé práce. Rovněž bych chtěla poděkovat Ing. Lukáši Omastovi za ochotu, trpělivost a spolupráci v rámci praktické části této práce. V neposlední řadě bych touto cestou chtěla poděkovala své rodině, která mě podporovala během celého studia.*

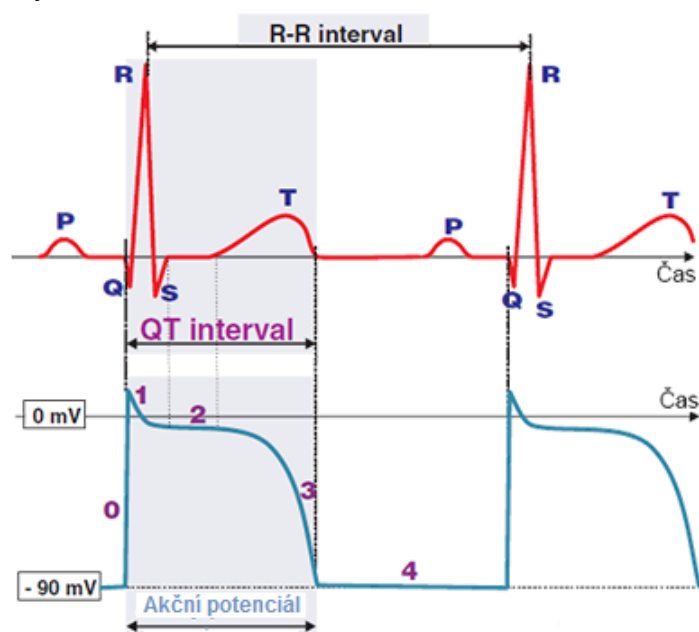
1	<b>ÚVOD</b> .....	7
2	<b>CÍL PRÁCE</b> .....	9
3	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	10
3.1	Elektrofyzologie a bioelektrické jevy.....	10
3.1.1	Akční potenciál kardiomyocytu .....	10
3.2	Techniky vhodné pro testování buněk.....	11
3.2.1	Mikroelektrodová pole pro sledování buněk .....	12
3.2.2	Elektrická stimulace buněk.....	13
3.3	Vodivé inkousty vhodné pro tisk organické elektroniky .....	14
3.3.1	Elektronová konfigurace organických polovodičů .....	15
3.3.2	Transport náboje v organických polovodičích .....	17
3.3.3	PEDOT:PSS.....	20
3.3.4	Uhlíková pasta.....	21
3.3.5	Stříbrná pasta.....	21
3.3.6	Fotorezist SU-8.....	22
3.4	Tištěná elektronika .....	22
3.4.1	Sítotisk.....	23
3.5	Fotolitografie .....	24
3.6	Substráty .....	26
3.6.1	Úpravy po natisknutí vrstvy .....	26
3.6.2	Polyethylentereftalát (PET) .....	26
3.6.3	Polyethylnaftalát (PEN).....	27
4	<b>INSTRUMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	28
5	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	30
5.1	Platforma se stříbrnými elektrodami .....	30
5.1.1	Měření napěťových signálů .....	31
5.1.2	Měření profilu vrstvy .....	32
5.1.3	Měření konduktivity pufru .....	33
5.1.4	Měření odporu PEDOTových prstů.....	34
5.2	Platforma s pozlacenými interdigitálními elektrodami .....	35
5.2.1	Analýza toxicity uvolněných iontů pozlacené platformy .....	36
5.2.2	Vymývání iontů .....	38
5.3	Platforma s uhlíkovými elektrodami .....	43
5.3.1	Test biokompatibility uhlíkových past.....	43
5.3.2	MTT test.....	44
6	<b>ZÁVĚR</b> .....	45

7	<b>ZDROJE</b> .....	47
8	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ</b> .....	51

# 1 ÚVOD

Kardiovaskulární onemocnění je hlavní příčinou úmrtí po celém světě a kardiotoxicita je jedním z nejčastějších důvodů pro stažení léků [1].

Hlavním problémem farmakologie bezpečnosti je prodloužení QT intervalu (specifický úsek EKG (Elektrokardiogram) pulzu, Obrázek 1, představující celkovou dobu depolarizace a repolarizace komor). Je známo více jak sto léčiv, které tento QT interval prodlužují a tím způsobují srdeční arytmii. Na základě toho regulační orgány, jako je americký úřad pro kontrolu léčivých přípravků (FDA) a Evropská agentura pro léčivé přípravky, vyžadují *in vitro* testování všech kandidátů léčiv proti potencionálnímu riziku prodloužení QT intervalu před klinickými studiemi [2].



Obrázek 1: QT interval a akční potenciál [43].

Aby mohly být splněny požadavky regulačních orgánů, potřebujeme vhodné metody schopné automatizovaného elektrofyziologického testování v současném vývoji farmaceutických složek.

U všedních preklinických *in vitro* studií se v testech akutní toxicity používají geneticky modifikované nekardiální nebo nehumánní srdeční buňky, případně se léčiva aplikují přímo na zvířata. Potíž je v tom, že zmíněný model má vysoce umělý charakter, respektive tyto buňky nejsou totožné s buňkami lidských kardiomyocytů. Záměnou nehumánních srdečních buněk za humánní by se tento umělý charakter odstranil [3].

V posledních letech se slibným buněčným zdrojem ukázaly být kardiomyocyty odvozené od lidských pluripotentních kmenových buněk (hiPSC). Nabízí široký potenciál v oblasti klinických aplikací, ale také při výzkumu fyziologických a patologických *in vitro* buněčných modelů nebo při vývoji léčiv, zejména při testování jejich bezpečnosti. To by mohlo předejít stažení schválených léků z trhu v důsledku neočekávaných negativních vedlejších účinků na lidské srdce. Novým přístupem je studium elektrofyziologických vlastností kultivovaných kardiomyocytů pomocí mikroelektrodových polí (MEA) [3].

Technologie MEA využívá vícekanálové záznamy z řady integrovaných extracelulárních elektrod, díky kterým zjistíme potenciály umožňující částečnou rekonstrukci tvaru a časového průběhu základního akčního potenciálu. Konkrétně trvání akčních potenciálů komorových myocytů souvisí s intervalem QT na elektrokardiogramu. QT interval nám poskytuje informace o depolarizacích a repolarizacích komor a je nepřímo úměrný srdeční frekvenci [2].

Vzhledem k tomu, že technologie MEA může být aplikována na jakoukoli elektrogení tkáň (tj. centrální a periferní neurony, srdeční či svalové buňky), je biosenzor ideálním *in vitro* systémem pro sledování jak akutních, tak chronických účinků léčiv a toxinů. Zaznamenáváním elektrické odezvy na různých místech tkáně lze vytvořit prostorovou mapu a poskytnout důležité informace o specifitě léku.

Tato nová strategie má potenciál zlepšit citlivost a specifčnost při včasné detekci rizik kardiotoxicity, čímž se sníží pravděpodobnost chybného vyřazení životaschopných kandidátů na léčivo a urychlí progres hodnotných léků do klinických studií [3].



## **2 CÍL PRÁCE**

Cílem této práce je vyrobit funkční snímače pro monitorování a elektrickou stimulaci buněčných kultur na bázi organických polovodičů. Příprava snímačů bude prováděna technologií sítotisku.

### 3 TEORETICKÁ ČÁST

#### 3.1 Elektrofyziologie a bioelektrické jevy

Elektrofyziologie zkoumá mechanismy generování a šíření elektrických signálů v živých tkáních. V obecnějším smyslu zkoumá elektrické měření iontového proudu v biologických systémech. S regulací iontové vodivosti je spojena přítomnost bílkovin obsažených v plazmatické membráně biologických systémů. Iontové kanály se nacházejí ve všech typech buněk. Iontové kanály jsou dvojího typu - iontové kanály napětím řízené, které jsou aktivovány změnou lokálního potenciálu a iontové kanály řízené chemicky, které převádějí chemické signály na elektrické. Iontové kanály napětově řízené hrají zásadní roli v elektricky excitabilních buňkách jako jsou neurony, svalové buňky a endokrinní buňky [4].

Středem našeho zájmu jsou excitabilní buňky. Tyto buňky jsou schopné generovat elektrické pulsy známé jako akční potenciál. Schopnost generovat elektrické impulsy je znakem buněčné membrány. Buněčná membrána je složena z elektricky nevodivé tenké lipidové dvojvrstvy se zabudovanými bílkovinnými útvary. Z hlediska elektrických jevů tyto makromolekuly tvoří iontové kanály, které mají transportní funkci umožňující přenos iontů přes membránu do okolního prostředí [7].

Koncentrace stejných iontů vně i uvnitř buňky je různá, úkolem buněčné membrány je uměle udržet tento koncentrační rozdíl mezi oběma stranami membrány pomocí iontových kanálků. Díky tomu na ionty působí dvě síly. První je koncentrační gradient ovlivňující směr pohybu iontů, druhou silou je membránový potenciál, který dopravuje ionty z místa o vyšší koncentraci do místa o nižší koncentraci prostřednictvím koncentračního gradientu.

Jakmile dojde k vyrovnaní koncentrace iontů uvnitř a vně buňky, hovoříme o rovnovážném membránovém potenciálu. Ten je stanovován pro každý iont zvlášť [6].

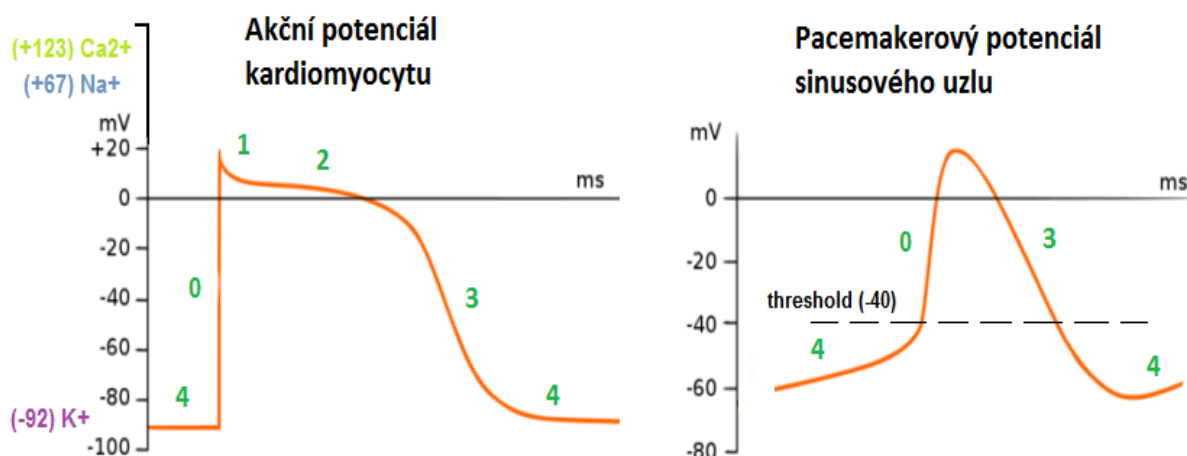
##### 3.1.1 Akční potenciál kardiomyocytu

Kontrakce buněk je vyvolána elektrickým pulzem známým jako akční potenciál. Impulzy začínají od malé skupinky myocytů nazývané "pacemaker cells", vybíhající ze sinoatriálního uzlu napříč celým srdcem. Přenos akčního potenciálu je zprostředkován pomocí "gap junctions", česky skulinové spojení. Jedná se o malé kanálky s přibližně 2 nm extracelulární mezerou, které propojují sousedící buňky, kterými proudí ionty a právě jejich pohybem dochází k přenosu akčního potenciálu.

Akční potenciál pacemakerových buněk, Obrázek 2, se spouští automaticky a udává rytmus srdečního svalu. Na rozdíl od kardiomyocytů je jejich potenciál v pohybu, a proto nemají klidový potenciál.

Akční potenciál pacemakerových buněk má tři fáze. V první fázi označované číslem 4 je pacemakerová buňka propustná pouze pro soli ( $\text{Na}^+$ ).  $\text{Na}^+$  ionty (-60 mV) postupně pronikají do buňky přes tzv. "funny" kanály a zvyšují potenciál k hodnotě prahu, tzv. "threshold". Při této hodnotě se otevírají napětově řízené kanálky pro  $\text{Ca}^{2+}$  ionty, které pronikají do buňky a zvyšují potenciál až na 10 mV - fáze 0. Při dosažení potenciálu 10 mV se vápenaté kanálky uzavírají a ve stejný moment se otevírají napětím řízené kanálky pro  $\text{K}^+$  ionty, které se dostávají ven z buňky a potenciál klesá zpět na hodnotu -60 mV - fáze 3, při této hodnotě se uzavírají napětím řízené kanálky pro  $\text{K}^+$  ionty a opět je vstup jen pro  $\text{Na}^+$  ionty. Celý cyklus se opakuje stále dokola. Počet cyklů za minutu udává srdeční frekvenci [5].

Než dojde ke kontrakci buňky srdečního svalu nazývaného kardiomyocyt, nachází se buňka ve stavu klidového membránového potenciálu -90 mV - fáze 4. Jestliže je buňka v klidovém stavu, jsou proteiny od sebe vzdáleny, v momentě, kdy se proteiny začnou překrývat, dochází ke kontrakci. Spouštěčem kontrakce je vápník. Jakmile pacemakerové buňky odstartují akční potenciál šířící se napříč celým svaem, spustí se přes "gap junctions" kanálky malé množství iontů  $\text{Na}^+$  a  $\text{Ca}^{2+}$  iontů. Dochází k depolarizaci buňky, membránový potenciál po příchodu kladných iontů vzroste z hodnoty -90 mV na -70 mV, což otevře spoustu napětím řízených sodíkových kanálků a dojde k velmi rychlé depolarizaci buňky až na potenciál 20 mV - fáze 0. Nyní se uzavírají napětím řízené kanálky pro  $\text{Na}^{2+}$  ionty a otevírají se napětím řízené kanálky pro  $\text{K}^+$  ionty. Draslík způsobí repolarizaci, nastane tedy pokles membránového potenciálu - fáze 1. Okolo potenciálu 5 mV se otevřou kanálky pro  $\text{Ca}^{2+}$  ionty. Nastává situace, kdy  $\text{Ca}^{2+}$  ionty vstupují do buňky a  $\text{K}^+$  ionty odcházejí ven, čili  $\text{Ca}^{2+}$  ionty posouvají membránový potenciál směrem do kladných hodnot,  $\text{K}^+$  ionty naopak membránový potenciál posouvají do záporných hodnot. Obě události vedou k membránovému potenciálu, který se nemění - rovná křivka. Jejich účinek se vzájemně vyruší, než dojde k vyrovnaní koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  iontů - fáze 2. Poté převáží koncentrace  $\text{K}^+$  iontů, která sníží membránový potenciál až na původní hodnotu -90 mV - fáze 3. Nyní se dostáváme do úvodního stavu, kdy je buňka připravena na nový cyklus, který se opakuje stále dokola, přičemž jeden cyklus trvá asi 200 ms [6].



Obrázek 2: Schematický průběh akčního potenciálu u kardiomyocytů a pacemakerových buněk.

### 3.2 Techniky vhodné pro testování buněk

Nejčastější techniky používané ke studiu živých buněk jsou optické metody, především světelná mikroskopie nebo použití fluorescenčních a chemiluminiscenčních sond. Technika umožňuje sledovat buňky v průběhu času, avšak vyžaduje složité nastavení aparatury a často vytváří rozsáhlé datové soubory při dlouhodobější analýze. Hlavními limitujícími prvky techniky jsou teoretický difrakční limit 250 nm a potenciální vznik artefaktů při použití fluorescenčních sond.

Alternativou mohou být elektronické metody, které nabízejí oproti optickým metodám několik výhod. Jsou neinvazivní, nepotřebují sondy a mohou dodatečně poskytovat měření v reálném čase. Elektronické metody využívají širokého spektra měření jako je snímání

membránového potenciálu, sledování impedance buněk a vytváření extracelulárního záznamu elektrických aktivit neuronů či kardiomyocytů [4].

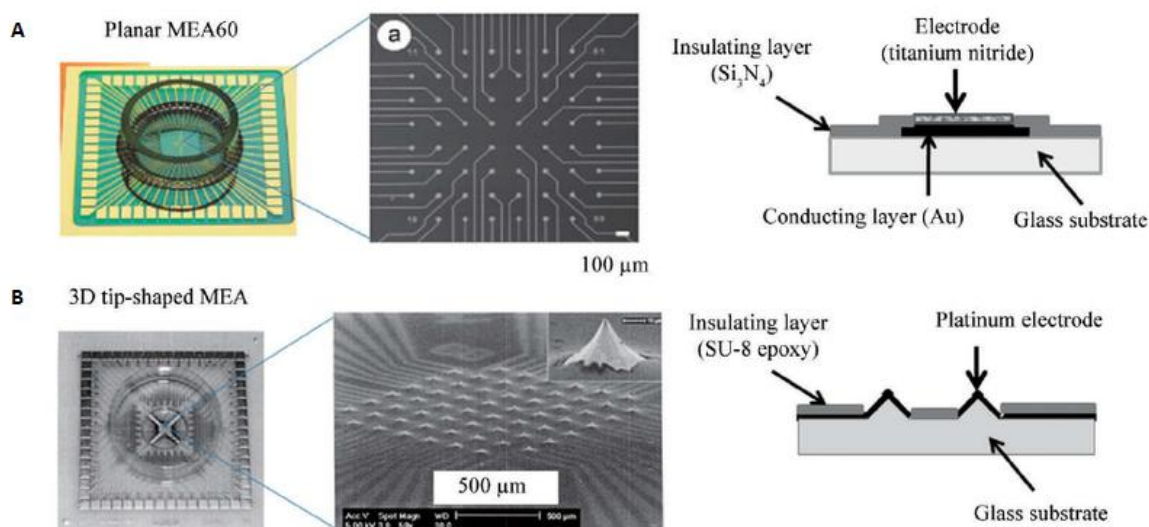
Aktivitu buněčných systémů je možné sledovat u samostatných buněk, ale také v jejich uskupení, např. svalů, neuronových sítí či srdečního svalu. Při sledování elektricky aktivních buněk existují dvě kategorie aktivit, a to intracelulární a extracelulární aktivita. Při výběru elektronického monitorování elektricky excitabilních buněk, jako jsou neurony, kardiomyocyty, popřípadě sekreční buňky, nás převážně zajímá jejich extracelulární aktivita. Ta se měří pomocí matice mikroelektrod na plošném substrátu. Extracelulární pole je součtem všech iontových procesů v detekovaném rozsahu záznamového zařízení. Složitost těchto příspěvků se spoléhá na velmi citlivé záznamy. Technologie, která využívá mikroelektrodová pole (MEA), je schopna pozorovat a elektricky stimulovat s rozlišením až na úroveň jediné buňky.

### 3.2.1 Mikroelektrodová pole pro sledování buněk

Nejpoužívanější technologií pro sledování aktivity excitabilních buněk a tkání jsou mikroelektrodová pole (MEA - microelectrode arrays). MEA nejenže je schopna buňky zaznamenávat, ale rovněž je schopna buňky stimulovat elektrickými pulzy. MEA jsou zhotovena na plošném substrátu, nejčastěji ze skla či plastu, ne němž je natisknuta vrstva vodiče a dielektrika metodou tenkovrstvé technologie. Jednotlivé buňky nebo řezy tkáně jsou osazeny přímo na povrchu elektrod. Hlavním rysem aktivity jednotlivé buňky je akční potenciál, náhlá změna napětí napříč buněčnou membránou, která je výsledkem transmembránových iontových a kapacitních proudů. Přestože amplituda akčního potenciálu je typicky řádově 100 mV, výsledné poklesy napětí měřené extracelulárně jsou v řádech desítek až stovek  $\mu\text{V}$ . Pokud jde o elektrody, obecně jsou ušlechtilé kovy (zlato a platina) první volbou v prostředí elektrolytu, jsou chemicky inertní, čili zabraňují uvolňování toxických látek do fyziologických medií a vykazují nízký poměr signál-šum (SNR - Signal to Noise Ratio), který je dán vysokou impedancí elektrod. Ve skutečnosti impedance elektrod přispívá k celkovému SNR. Impedance pro elektrody o velikosti 10-50  $\mu\text{m}$  je typicky asi 1 M $\Omega$  při 1 kHz. Logickou strategií pro snížení impedance elektrody a zároveň k dosažení kvalitního záznamu je zvýšit jejich plochu vrstvou porézního materiálu [4].

Jako slibné materiály, které mají snížit impedanci elektrod MEA, se prosazují vodivé polymery. Hlavními charakteristikami vodivých polymerů jsou vysoká elektrická vodivost a propustnost vůči iontům. Kombinace těchto vlastností zvyšuje elektrochemický povrch elektrod, což snižuje jejich impedanci. Vodivý materiál nejenže umožňuje podstatné snížení impedance elektrody, ale je také biokompatibilní, což je žádoucí pro použití v biomedicínských aplikacích [4]. Dalším způsobem jak zvýšit elektrickou vodivost je změna geometrie elektrod. Pro málo vodivý materiál můžeme použít interdigitální elektrody (IDEs), které výrazně zvýší elektrickou vodivost při vloženém nízkém napětí.

Jako nejslibnější polymer se jeví poly (3,4-ethylendioxythiofen) (PEDOT) dopovaný poly (styrensulfonátem) (PEDOT:PSS). Polymer je schopný snížit impedanci až o jeden řád, z 400 k $\Omega$  na 20 k $\Omega$  při 1 kHz. Takto připravená MEA byla již použita při studii in vitro sledování spontánní aktivity z čerstvě připravených plátů hippocampu potkana s rozlišením až na jednotlivé neurony [4].



Obrázek 3: (A) Planární biočip MEA60 zahrnující 60 mikroelektrod, které jsou spojené pásovými vodivými spoji. O kontakt s měřeným materiálem se starají zlaté vodivé vrstvy s elektrodou z nitridu titanu umístěné na skleněném substrátu a prostor pro kultivaci buněk vymezuje skleněný váleček. Izolační vrstvu MEA tvoří nitrid křemíku. V tomto jde o extracelulární systém. (B) 3D MEA opět složená z 60 mikroelektrod. O kontakt s měřeným materiálem se starají zašpičatělé platínové elektrody na skleněném substrátu. Izolační vrstva je tvořena vrstvou SU-8. Jedná se o intracelulární systém, kde se buňky napichují a přímo se snímá extracelulární potenciál [8].

### 3.2.2 Elektrická stimulace buněk

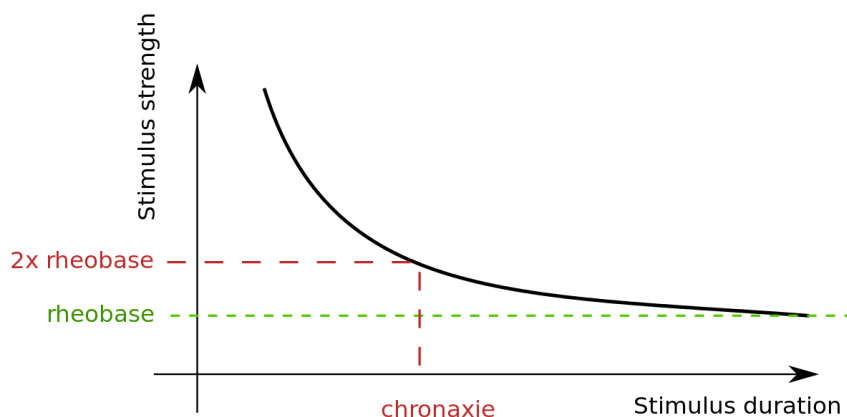
Elektrická stimulace buněk či tkání je prováděna pomocí vodivých elektrod s určitou velikostí a tvarem, které jsou umístěné v požadovaných biologických místech zájmu. Coulombický náboj je injektován přes elektrody pomocí pulzů konstantního proudu nebo konstantního napětí [9]. Zařízení s konstantním proudem (CC - Constant Current) nastavují výstupní napětí tak, aby poskytovaly CC stimulaci bez ohledu na kolísání impedance, zatímco proud aplikovaný stimulací konstantního napětí (CV- Constant Voltage) závisí na impedanci, která se může časem měnit [10]. Výběrem parametru intenzity a doby trvání volíme vhodné pulzy pro danou aplikaci. (Obrázek 4). Elektrická stimulace závisí na další řadě parametrů, jako jsou akční potenciál, typ elektrody, polarita a impedance rozhraní.

Application	Current	Voltage	Pulse frequency	Pulse duration	Phase duration
Cardiac stimulation	0–500 mA	0–500 V	1–120 Hz	13–100 µs	20–45 µs
Nerve stimulation	0–10 mA	0–50 V	1–150 Hz	10–500 µs	5–250 µs
Muscular stimulation	0–200 mA	0–100 V	1–200 Hz	20–300 µs	0–100 µs
Brain microstimulation	1–999 µs	0–100 V	0.001–1 kHz	0.5–5000 µs	0.5–5000 µs

Obrázek 4: Stimulační parametry, které se aplikují na tkáň [9].

Aby se aktivovala cílená tkáň nebo orgán, musí být systému dodáno minimální množství náboje, které je nutné pro vyvolání stimulace. Tyto prahové hodnoty jsou vyjádřeny prostřednictvím "strenght- duration curve" (I/t křivky) Obrázek 5. Tato křivka popisuje vztah mezi minimálním (prahovým) proudem a dobou impulsu požadovaného pro stimulaci. Tvoří základ pro popis excitability dané tkáně, který popisuje způsob, jakým se změni požadovaný

proud při změně trvání impulsu. Křivka  $I/t$  zahrnuje dva důležité parametry, jmenovitě "reobáze" a "chronaxie". Reobáze je nejmenší intenzita elektrického proudu nutná k depolarizaci biologické membrány. Na druhé straně chronaxie, známá jako časová konstanta, je minimální čas potřebný k vyvolání podráždění při intenzitě proudu rovné dvojnásobné reobázi [9]. Nejkratší chronaxii mají kosterní svaly ( $< 1$  ms), srdeční sval (5 ms) a nejdelší chronaxii mají hladké svaly (50-700 ms).



Obrázek 5:  $I/t$  křivka popisující závislost intenzity proudového impulsu na jeho trvání.

Jak již bylo řečeno, elektrody jsou nezbytnou součástí elektrické stimulace. Utvářejí vodivé kontaktní body mezi elektrickými stimulátory a biologickými vzorky. Tvarem nebo umístěním (intracelulární nebo extracelulární) elektrody ve zkoumaném vzorku můžeme regulovat proudovou hustotu. Pro funkční elektrickou stimulaci a záznam jsou preferovány extracelulární elektrody z důvodu jejich nedestruktivního a snadného neurálního rozhraní [9].

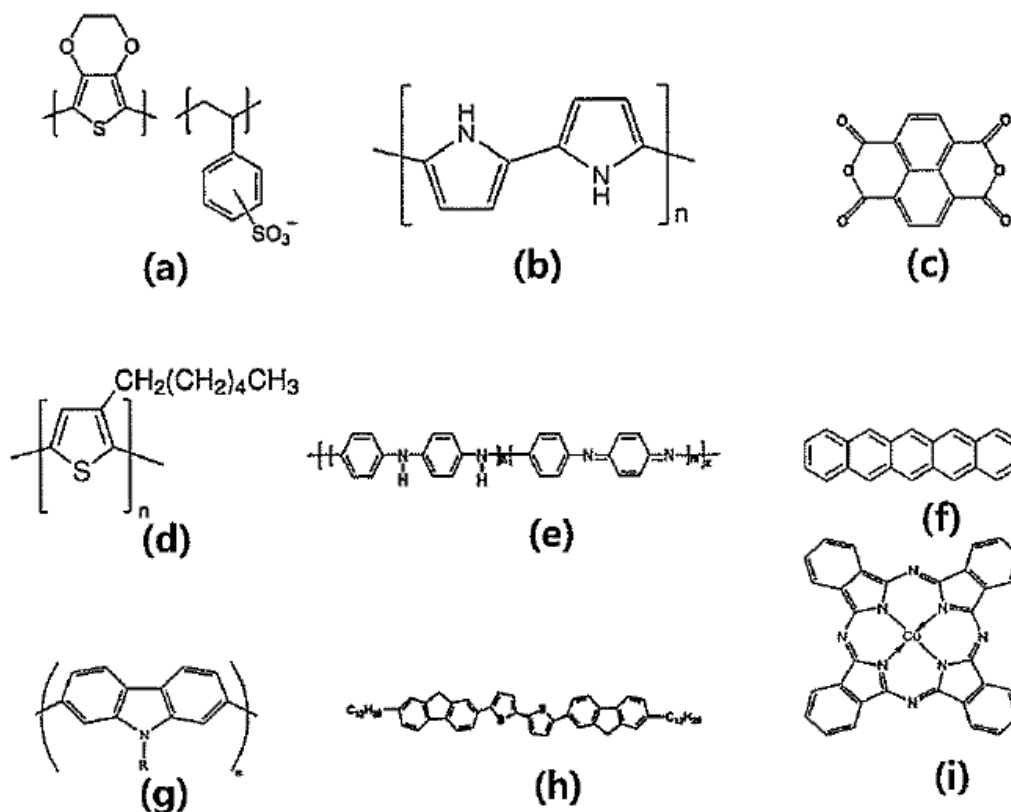
### 3.3 Vodivé inkousty vhodné pro tisk organické elektroniky

Koncem sedmdesátých let získala organická elektronika velikou pozornost v oblasti elektroniky a pomohla vzniku komerčním alternativám, do té doby běžně používaných anorganických polovodičů, jako je Si nebo GaAs. Organické vodiče mají oproti anorganickým protějškům poměrně snadno laditelné fyzikální a chemické vlastnosti podnícené změnou funkčních skupin na molekule. Organické polovodiče díky své všestrannosti nabízejí mnoho benefitů. Jedním z nich je nízký nárok na výrobní procesy. Majorita anorganických polovodičů je vyráběna na extrémně čistých krystalických substrátech při vysokých teplotách, zatímco organické polymery jsou vyráběny konvenčními tiskovými metodami za pokojové teploty [11].

Rozlišujeme dvě základní skupiny organických polovodičů - nízkomolekulární a polymerní organické polovodiče. Organické skupiny polovodičů se od sebe odlišují způsobem, jakým z nich dokážeme vytvářet tenké vrstvy. Nízkomolekulární polovodiče deponujeme z plynné fáze, pokud nepodléhají rozkladu při ohřevu, i z roztoku, pokud jsou rozpustné ve vhodném rozpouštědle. Naproti tomu konjugované polymery jsme schopni nanášet jen z roztoku například tiskovými technikami.

Pro aktivní funkce organických polymerů v elektronice je nutné použít takové polymery, které obsahují volné elektrony nebo díry, které se po aplikaci elektrického pole mohou pohybovat. Tuto vlastnost mají polymery s  $\pi$ -konjugovaným řetězcem, ve kterém se střídají

jednoduché a dvojné vazby. Samotné konjugované polymery jsou často nerozpustné. Je však možné tyto polymery chemicky modifikovat, například navázáním bočních skupin a z takto modifikovaného konjugovaného polymeru lze připravit inkoust, ze kterého je možné tisknout elektronické komponenty [12].

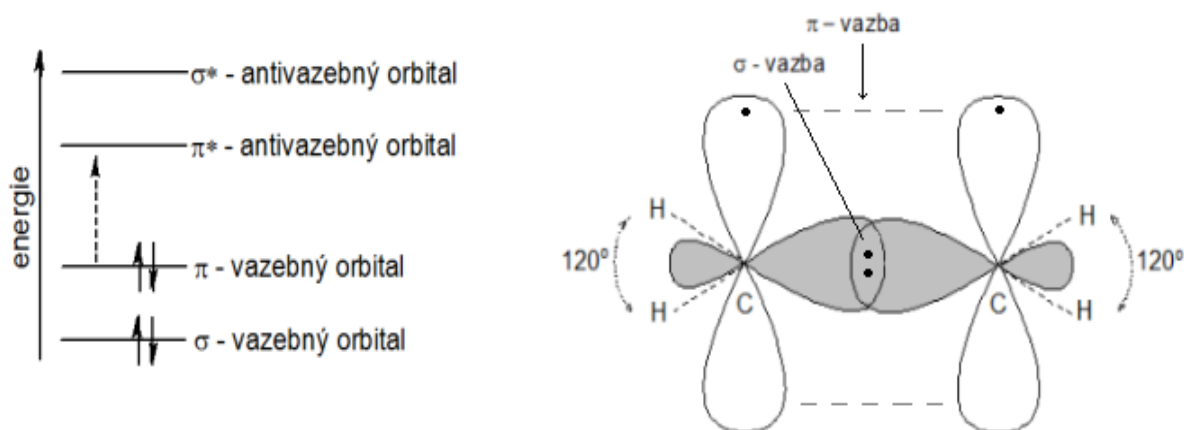


Obrázek 6: Výčet některých organických polovodičových molekul. (a) PEDOT:PSS, (b) polypyrrol, (c) NTCDA, (d) P3HT, (e) polyanilin, (f) pentacen, (g) polykarbazol, (h) DDFTTF, (i) CuPc [11].

### 3.3.1 Elektronová konfigurace organických polovodičů

Organickými polovodiči rozumíme makromolekuly s konjugovaným systémem vazeb, kdy se mezi atomy uhlíku střídají jednoduché a dvojné vazby. Uhlíky vázané dvojnou vazbou mají tři valenční elektrony umístěné v  $\text{sp}^2$  hybridizovaných orbitalech, nacházejících se v jedné rovině a jejich překryvem vzniká jednoduchá  $\sigma$  vazba. Kolmo k této rovině se nachází  $p_z$  orbital, v němž leží čtvrtý valenční elektron, podílející se na vzniku  $\pi$  vazeb.

V systému konjugovaných jednoduchých a násobných vazeb dochází k silné delokalizaci  $\pi$  elektronů pod a nad planární rovinou molekuly. Vznik vazeb je doprovázen vznikem nových molekulových orbitalů, respektive dojde-li k překryvu dvou a více atomových orbitalů, vznikne molekulový orbital. Jestliže molekulový orbital má menší energii než původní atomový orbital, nazýváme ho jako vazebný molekulový orbital a jde o stabilní formu. V případě, že vzniklý orbital má energii vyšší než původní atomový orbital, vzniká antivazebný molekulový orbital s nestabilní formou. Ostatní orbitály, které se také podílejí na tvorbě molekulového orbitalu, se nazývají nevazebné orbitály a obsahují nevazebné elektrony. V přítomnosti vazby  $\sigma$  vznikají dva orbitály, vazebný  $\sigma$  orbital a antivazebný  $\sigma^*$  orbital. Stejně je tomu u  $\pi$  vazeb, kdy každý  $\pi$ -vazebný orbital má orbital antivazebný, Obrázek 7.



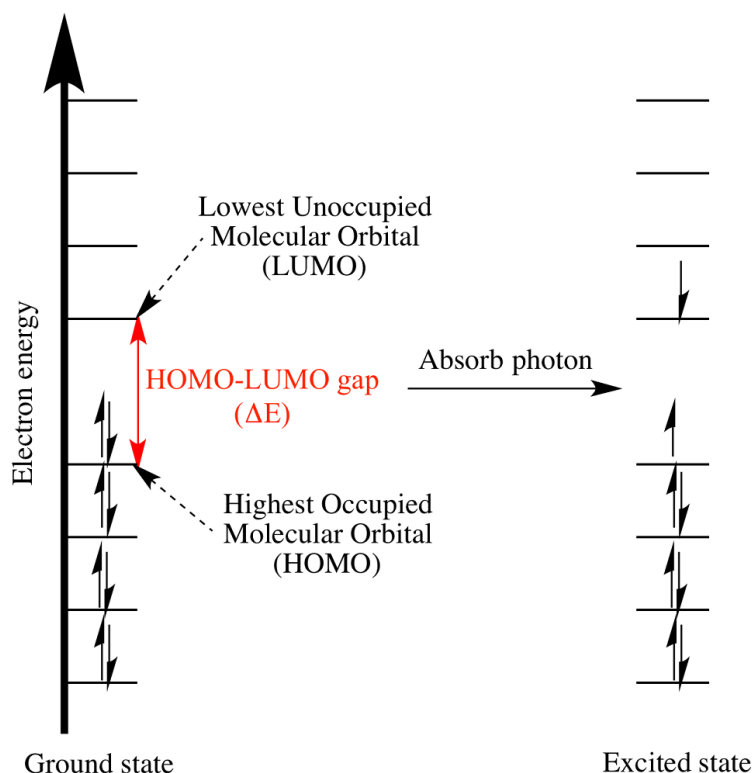
Obrázek 7: Graf nalevo znázorňuje energetické hladiny v konjugovaném systému molekuly s dvojnou vazbou. Přerušovanou čarou je znázorněna základní excitace z  $\pi$ -vazebného orbitalu do  $\pi^*$ -antivazebného orbitalu molekuly. Napravo je molekula ethenu se zaznačenými druhy vazeb. Bílé jsou nehybridizované  $p_z$  orbitaly a šedě hybridizované  $sp^2$  orbitaly [11].

Molekuly nacházející se v základním energetickém stavu mají všechny valenční elektrony umístěné ve vazebných molekulových orbitalech. Ty nejvýše obsazené, respektive energeticky nejbohatší vazebné orbitaly, jenž jsou kompletně zaplněné elektrony, nazýváme HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) a naopak energeticky nejchudší protivazebné molekulové orbitaly, které naopak neobsahují žádné elektrony, značíme LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital). Orbital pouze s jedním elektronem se nazývá SOMO (Singly Occupied Molecular Orbital). Rozdíl energií orbitalů LUMO a HOMO odpovídá nejnižší nutné excitační energii, kterou molekula musí absorbovat, aby se dostala do elektronového excitovaného stavu, Obrázek 8. U organických polovodičů se energie zakázaného pásu pohybuje v rozsahu 1-4 eV, což je oblast infračerveného až ultrafialového spektra. Dobře prozkoumaným polovodičem s konjugovaným systémem je polyacetylen, který je tvořen jedním řetězcem se střídajícími se jednoduchými a dvojnými vazbami [12].

Uspořádání organických makromolekul v pevném stavu je dáno prostorovým uspořádáním molekul a jejich vzájemnou interakcí. Molekuly jsou nejčastěji vzájemně spojeny vodíkovou nebo Van der Waalsovou vazbou, nebo pomocí dipólových interakcí. Organické materiály vytvářejí molekulové krystaly ve snaze dosáhnout co nejtěsnějšího uspořádání. Vlastnosti organických látek se značně liší od jejich anorganickým protějšků. Hned první rozdíl spočívá v síle interakce vazeb v krystalové mřížce molekuly. Pro anorganickou strukturu je typická kovalentní či iontová vazba, která je ve srovnání s organickými látkami výše jmenovanými až stokrát silnější. Další podstatný rozdíl je v délce vázaných molekul, kdy mezimolekulové vzdálenosti v krystalové mřížce jsou větší ve srovnání s délkou vazby v anorganických látkách. Rozdíly se najdou i v elektronové struktuře. Zatímco anorganický krystal je doprovázen delokalizací vodivostních elektronů přes celou krystalovou mřížku, tak v organických krystalech je mobilita nosičů náboje závislá na mezimolekulárních vzdálenostech, jenž se projeví nízkou tepelnou a přeskokovou elektrickou vodivostí. To je důvod, proč se organické pevné látky dlouhou dobu považovaly za izolanty. Protože řetězce polymerních látek zaujímají značné množství konformací,



respektive se častěji nacházejí ve stavu amorfním, než ve stavu krystalickém, proto je jejich pravidelné uspořádání do krystalické mřížky často nemožné [13].



Obrázek 8: Schéma elektronové energie LUMO a HOMO molekuly. Červeně je znázorněn zakázaný pás, respektive rozdíl energií orbitalů HOMO-LUMO, který odpovídá nejnižší excitaci ( $\Delta E$ ), kterou molekula musí absorbovat, aby se ze základního elektronového stavu dostala do elektronového excitovaného stavu v důsledku přeskočení elektronu z orbitalu HOMO do orbitalu LUMO [14].

### 3.3.2 Transport náboje v organických polovodičích

Nosiči náboje rozumíme elektrony, částice se záporným elektrickým nábojem, nebo díry, částice s kladným elektrickým nábojem. Ty vznikají excitací elektronu dodáním energie ve formě tepla, absorbovaného fotonu, či působením elektrickým polem. Zavedením elektrického pole dochází v systému konjugovaných dvojných vazeb k interakci  $\pi$  orbitalů, které způsobí delokalizaci elektronů v molekule, a tím dochází k rozložení  $\pi$  elektronů kolem uhlíkové kostry. To ulehčí pohyb  $\pi$  elektronů, jakožto volných nosičů náboje po konjugované části molekuly. Prodloužením délky konjugovaného řetězce molekuly by měla elektrická vodivost vzrůstat. Teoreticky by materiál s více než tisíci monomerními jednotkami mohl dosáhnout až kovové vodivosti. Prakticky k tomu nedojde vlivem faktorů jako je nesouměrnost jednoduchých a dvojných vazeb v důsledku kmitání atomů způsobené tepelným pohybem nebo rotací řetězců [15].

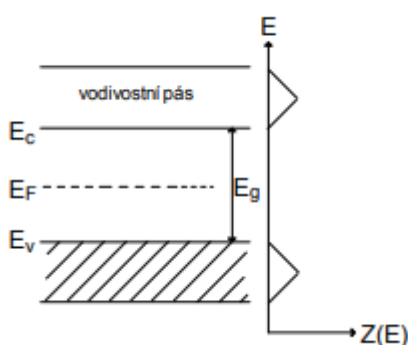
3D struktura ideálních anorganických krystalů je tvořena sítí z nekonečně se opakujících jednotek, které jsou spojené silnými kovalentními nebo iontovými interakcemi. Přes uspořádanou mřížku se rozkládají nelokalizované valenční  $E_v$  (nejvyšší energie) a vodivostní pásy  $E_c$  (nejnižší energie), přičemž prostor mezi nimi je vymezen zakázaným

pásem a je dán rovnicí (1). Uprostřed zakázaného pásu leží Fermiova hladina s energií  $E_F = E_0$ .

$$E_g = E_c - E_v \quad (1)$$

Energie elektronů v pásech není spojitá, ale je kvantovaná. Každá energetická hladina může být obsazena dvěma elektrony s opačným spinem. Jestliže valenční elektrony obsadí valenční pás až po valenční energii  $E_v$  a energie zakázaného pásu je několik eV, chová se látka jako nevodič. Jestliže je valenční pás částečně zaplněn elektrony až k Fermiově energii  $E_F$ , pak se látky chovají jako kovy. Pokud je energie zakázaného pásu v rozmezí 0-2 eV, látky se chovají jako polovodiče, Obrázek 9 [16].

Je-li Fermiova hladina blíže k vodivostnímu pásu, jedná se o materiál polovodiče typu N, jestliže se Fermiho hladina blíží naopak více k valenčnímu pásu, označujeme takový materiál za polovodič typu P. Vlastnosti typu P či N můžeme měnit vhodným dopováním [15].



Obrázek 9: Pásové schéma polovodiče.  $E_v$  je hrana valenčního pásu,  $E_c$  je hrana vodivostního pásu,  $E_g$  je energie zakázaného pásu a  $E_F$  je Fermiova hladina [16].

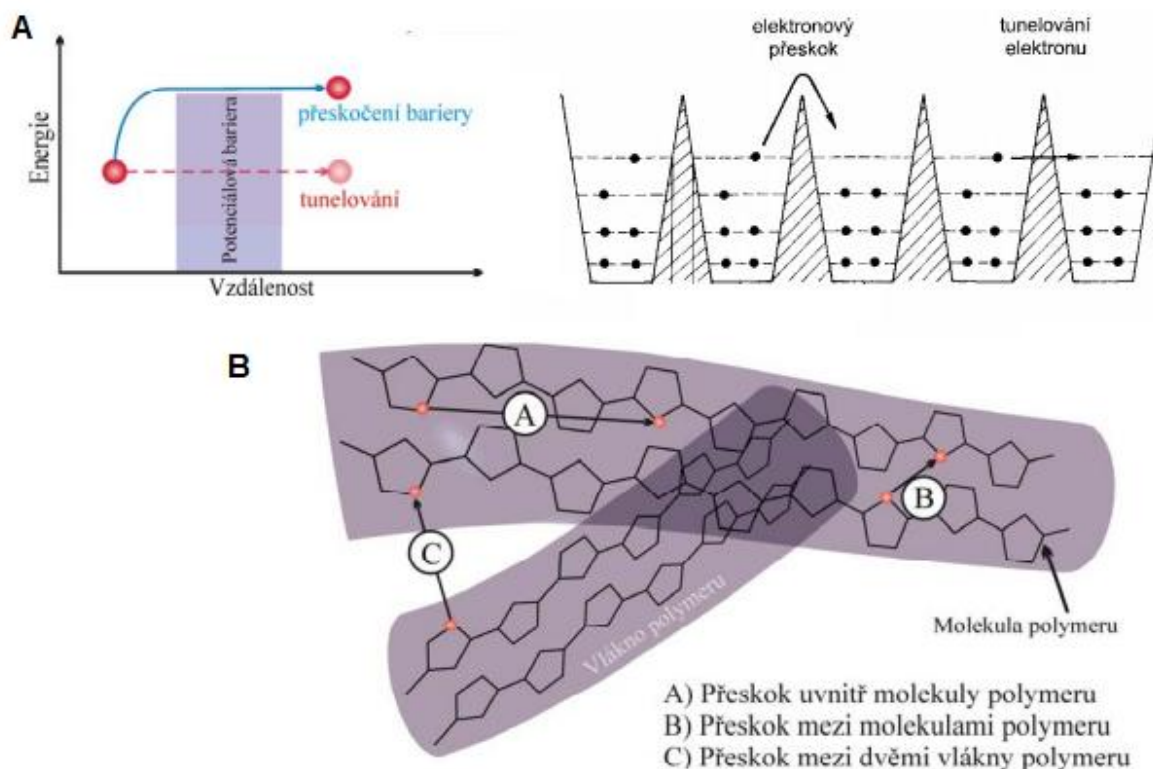
Nosiče náboje se v pásech pohybují s poměrně vysokou střední volnou dráhou, která se mění s efektivní koncentrací nosičů náboje a teplotou. Mobilita nosičů náboje v anorganické mřížce krystalu polovodiče typu křemík je řádově  $1 \text{ cm}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$ . V porovnání s neuspořádanou strukturou organických polymerů, jejichž struktury bývají často narušeny chemickými a strukturními poruchami, jsou nuceny nosiče nábojů překonávat energetické bariéry mezi jednotlivými molekulami, k jejichž překlenutí potřebují dodatečnou energii. Tomu připadají experimentálně získaná data v oblasti  $10^{-10}$ - $10^{-7} \text{ cm}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$ , která dosahují řádově nižších hodnot mobility, oproti jejich anorganickým protějškům či uspořádané struktuře organických krystalů [16].

Absence opakujících se jednotek v mřížce neuspořádaného polymerního polovodiče komplikuje popis průběhu mobility nosiče náboje v podmínkách standardního modelu polovodiče. K překonání energetické bariéry polarizovaného stavu nosiče absorbují nebo emitují fotony. Proces fotonem vyvolaného přeskočení byl popsán Conwellem a Mottem. Jedná se o popis skokového transportu v prostředí konstantní hustoty stavů, který říká, že skok na delší vzdálenost je stejně důležitý jako skok do vyšších energetických stavů. V takovém systému je vedení nosiče náboje závislé na teplotě. Při nízké teplotě jsou energetické stavy blízko k sobě a pravděpodobnost absorpce fotonu elektronem, který přeskočí z obsazeného

stavu do neobsazeného, je vysoká. Takže míra přeskočků nosiče náboje závisí na velikosti energetické bariéry a vzdálenosti mezi stavy [13].

Dalším a běžně používaným teoretickým modelem, který se používá k analýze mobility náboje v organických polymerech nebo anorganického krystalu polovodiče, je těsnovazebný model SSH (Su-Schrieffer-Heegerův). Model vychází z předpokladu pravděpodobnosti přeskočků elektronu mezi sousedními molekulovými orbitály, který narůstá se zmenšující se vzdáleností atomů. Právě intermolekulární vzdálenosti v pevném materiálu jsou hlavní překážkou mobility nosičů náboje, ta působí jako potenciálová bariéra, kterou musí nosiče náboje překonat přeskokem nebo tunelováním [13].

Obrázek 10 vykresluje možné děje transportu náboje. Z energetického hlediska je nejméně náročný přenos podél molekulárního řetězce. Aby elektron byl schopen překonat potenciálovou jámu mezi sousedními molekulami, musí mu být dodána dodatečná energie v podobě absorpce záření, tepelné energie či aplikace vnějšího elektrického pole. V rámci systému dvou polymerních vláken může dojít k několika typům přenosu náboje. Nejméně energeticky náročný je přeskok náboje v rámci jedné molekuly. Jestliže má náboj přeskočit mezi dvěma molekulami polymeru, musí překonat větší potenciálovou bariéru. Pakliže nosič náboje nemá dodatečnou energii pro přeskok, je zde možnost přenosu náboje pomocí tunelového jevu. Nosič náboje protuneluje potenciálovou bariéru bez dodatečné energie. Děj je dán pravděpodobností, která klesá se zvětšující se šířkou potenciálové bariéry v závislosti na její výšce [16].



Obrázek 10: (A) Graf popisující závislost energie na mezimolekulární vzdálenosti. Jestliže má nosič náboje dostatečnou energii dodanou světelným zářením, teplem nebo elektrickým polem, dokáže překonat potenciálovou bariéru přeskokem. V opačném případě může s určitou pravděpodobností elektron potenciálovou bariérou protunelovat. (B) Možné způsoby přenosu náboje přeskokem

a) přenos v rámci polymerního řetězce, b) přenos mezi dvěma polymerními řetězci, c) přenos mezi dvěma polymerními vlákny [13], [16].

Výsledné vlastnosti vodivosti  $\pi$  konjugovaného systému polovodivého materiálu je součtem vlastností jednotlivých makromolekul a jejich uskupení napříč materiálem. Matematicky můžeme elektrickou vodivost vyvolanou nosičem náboje  $\sigma$  vyjádřit rovnicí (2).

$$\sigma = q \cdot n \cdot \mu \cdot F \quad (2)$$

kde  $q$  představuje elementární náboj,  $n$  je koncentrace nosičů náboje a  $\mu$  je jejich mobilita v elektrickém poli s intenzitou  $F$ . V případě organického materiálu, kde roli nosičů náboje zastávají elektrony a díry, nabývá rovnice nového tvaru

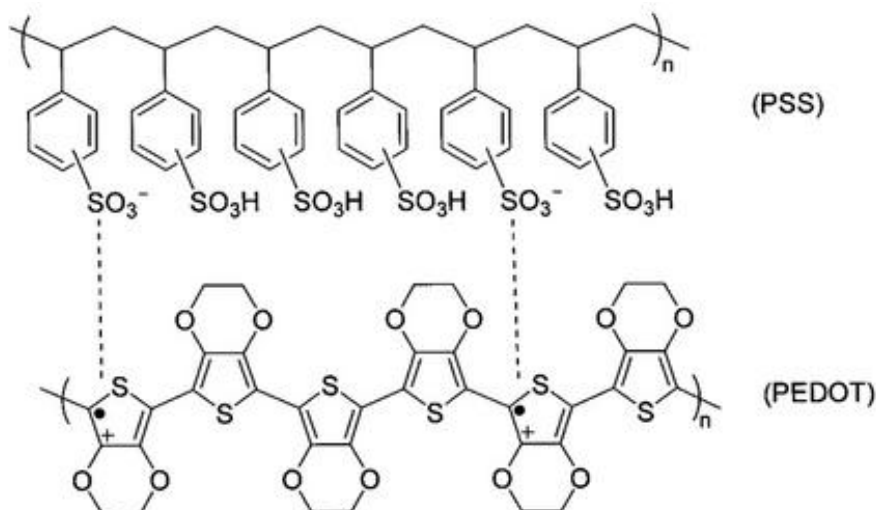
$$\sigma = e \cdot F \cdot (n_e \cdot \mu_e + n_d \cdot \mu_d). \quad (3)$$

Nyní je náboj  $q$  roven elementárnímu náboji a vodivost materiálu je dána součtem součinu koncentrace a pohyblivosti elektronu  $n_e \cdot \mu_e$  a děr  $n_d \cdot \mu_d$  [15].

### 3.3.3 PEDOT:PSS

Dobře prostudovaný a široce používaný polovodivý polymer je poly(3,4-ethyldioxythiofen), neboli PEDOT, dopovaný polystyrensulfonátem (PSS), které dohromady tvoří polymerní směs PEDOT:PSS. PEDOT je sám o sobě nerozpustný polymer, jehož rozpustnost je upravena příměsí PSS, která je ve vodě rozpustná. PEDOT:PSS má vlastnosti polovodiče typu P, ve kterém jsou záporné náboje na řetězci PSS kompenzovány děrami v konjugovaném řetězci PEDOTu [17].

V přítomnosti PEDOTu působí PSS jako oxidační činidlo, které naprotonuje řetězec PEDOTU, který tím získá kladný náboj a PSS naopak záporný. Spolu vytváří makromolekulární sůl  $\text{PEDOT}^+:\text{PSS}^-$ , která je rozpustná v organických polárních rozpouštědlech jako je voda [18].



Obrázek 11: Chemická struktura polovodivého polymeru PEDOT:PSS.

PEDOT:PSS je v základním stavu částečně oxidovaný a chová se jako polovodič. Další oxidací můžeme jeho vodivost ještě navýšit. Naopak jestliže dojde k redukci, PEDOT ztrácí

schopnost být vodivý. Tento mechanismus schematicky popisuje rovnice (4), přičemž redukce neboli de-dopování probíhá zleva doprava.  $M^+$  jsou kladně nabití ionty v roztoku. Elektrolyt, který je v kontaktu s PEDOT:PSS dodává kladně nabití ionty ( $M^+$ ) spolu s iontovou vodivostí potřebnou pro transport těchto iontů dovnitř a ven z PEDOT:PSS [19].



Vlivem elektrického pole při pokojové teplotě mohou ionty poměrně snadno prostupovat do vrstvy polymeru a de-dopovat ji, protože jednotlivé molekuly polymeru se nachází poměrně daleko od sebe a vzájemně jsou poutány slabými Van der Waalovými interakcemi. PEDOT:PSS jak již bylo zmíněno je hydrofilní a ve vodném prostředí bobtná, mezery mezi molekulami polymeru se rozšiřují a ionty snáze projdou a efektivněji jej de-dopují [20].

Jelikož PSS není vodivý polymer a snižuje vodivost směsi tím, že vytváří kolem PEDOTu izolační film, má polymer i přesto vysoké hodnoty vodivosti okolo 300 S/cm. Bylo vypořádováno, že vodivost PEDOTu je možné navýšit některými organickými sloučeninami, a to až o dva řády. Příkladem chemikálií jsou dimethylsulfoxid (DMSO), N,N-dimethylformanid (DMF), glycerol či ethylenglykol [21].

### 3.3.4 Uhlíková pasta

Jako další vodivý materiál, který se používá k přípravě tištěné elektroniky, je uhlíkový inkoust, který v průběhu posledních let získal na oblíbenosti. Jednou z výhod jsou i nízké výrobní náklady.

Uhlíková pasta obsahuje pojivo rozpuštěné v rozpouštědle a grafitový prášek. Pojivo absorbuje uhlíkový prášek a rozptýlí ho ve směsi. V některých případech jsou do směsi přidána aditiva, která ovlivňují výsledné vlastnosti pasty, jako je například vodivost, doba tvrdnutí, či viskozita. Vznikají tak pasty s jedinečnými vlastnostmi, které jsou ovlivněny poměrem výchozích látek - grafitovým práškem a pojivem [22].

Uhlíkové inkousty jsou viskózní, poskytují nízké tření, mají nízké proudové pozadí, vynikající tepelnou stabilitu a vysokou odolnost proti poškrábání a ohýbání. Jsou chemicky inertní, s nízkou reaktivitou vůči rozpouštědlům a jiným chemikáliím. Jejich odpor se pohybuje v rozsahu jednotek až desítek ohmů na čtverec a potenciálový rozsah se mění v závislosti na použitém roztoku od -1,3V do 1,5 V [23].

Námi použitá pasta Heat Curable Carbon Paste C2050503P1, zakoupena od společnosti Gwent, je nízkoteplotní tvrditelná pasta určená pro použití v sítotisku. Má vynikající chemickou odolnost, výbornou přilnavost a pracuje v prostředí s vysokou vlhkostí. Uhlíková pasta se vytvrzuje při teplotě 150 °C a má plošný odpor 50  $\Omega/\square$  při 25  $\mu\text{m}$ .

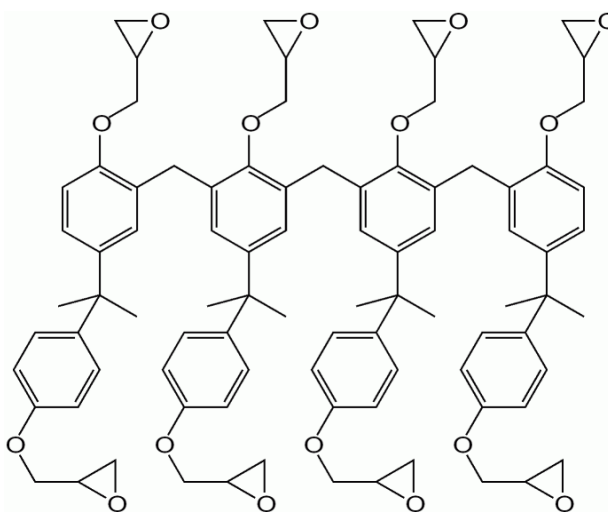
### 3.3.5 Stříbrná pasta

Vyznačuje se vysokou elektrickou vodivostí a dobrou odolností proti poškrábání a ohýbání. Námi použitá stříbrná pasta Flexible silver paste C2131014D3 je tepelně vytvrditelná při teplotě 130 °C s plošným odporem 100  $\text{m}\Omega/\square$  při 25  $\mu\text{m}$ . Pasta je vhodná pro širokou perspektivu substrátů zahrnující sklo, plast nebo povrchy potažené silikonem [24].

### 3.3.6 Fotorezist SU-8

Je často používaným fotosenzitivním negativním rezistorem na bázi epoxidů Obrázek 12, který se v současné době používá pro širokou škálu aplikací [25]. Negativem se rozumí fotorezist, ve kterém se dlouhé molekulové řetězce vystavené UV zářením zesílí, zatímco zbytek vrstvy zůstává rozpustný a tyto neexponované části jsou vymyty roztokem [26].

Jeho maximální absorpce je v ultrafialové oblasti 365 nm. Jedná se o biokompatibilní materiál, proto se poměrně často používá v bio-MEMS (MicroElectroMechanical Systems) pro aplikace v oblasti biologických věd [27]. SU-8 ve formě viskózního polymeru může být nanášen v tenkých vrstvách s širokou škálou tloušťek od méně než 1  $\mu\text{m}$  do více než 300  $\mu\text{m}$  a je používán pro vytvoření struktur s vysokým rozlišením [28].



Obrázek 12: Struktura molekuly fotorezistu SU-8 [29].

### 3.4 Tištěná elektronika

Jak samotný název kapitoly napovídá, jedná se o elektroniku tištěnou různými tiskovými technologiemi, jako jsou rotační tiskárny, sítotisk nebo například inkoustové tiskárny. Tyto stroje tisknou žádané motivy na různé povrchy materiálů, například na papír, plast, fólii, sklo a další materiály využívané pro široké spektrum elektronických zařízení [30].

V posledních letech jsou tiskové technologie v elektronickém průmyslu stále více populární hned pro několik výhod. Nízké výrobní náklady a velkoobjemová produkce unikátních součástek lehkých, ohebných a tenkých tvarů vyráběných při pokojové teplotě. Další výhodou oproti klasické technologii postavené na anorganických materiálech je úspora materiálu [30]. Tiskové technologie nanášejí tenké vrstvy materiálu selektivně tam, kde je potřebujeme narozdíl od konvenčních technologií jako je fotolitografie, kdy je materiál nanášen na celou plochu substrátu a v dalším kroku je nechtěná část z celistvé vrstvy na požadovaných místech odleptána [31]. Je tak možné natisknout součástku z více jednotlivých vrstev a přitom se nemusí tisknout po celé ploše, ale jen tam, kde je třeba. Takto lze z různých materiálů vytvořit i poměrně složité struktury, které se skládají z organických částí, izolací a vodivých spojů. [30]. Celkový postup výroby tištěné elektroniky má podstatně méně výrobních kroků a celkový proces se značně zjednodušuje. Dále tištěná elektronika nabízí širší škálu vhodných materiálů, jako jsou například bioaktivní materiály, které získávají

stále více na oblíbenosti. Nejčastěji se s těmito materiály setkáme v lékařských preparátech určených k interakci s biologickými systémy. Tyto materiály by se nedaly připravit metodou fotolitografie, protože by nesnesly UV záření nebo leptací roztoky [15].

Tisk vodivých spojů je dost obdobný s běžným tiskem čar na inkoustových tiskárnách s rozdílem, že namísto běžného inkoustu je použit inkoust vodivý, který obsahuje částičky vodivých materiálů, jako jsou například měď, stříbro či zlato. Vodivý inkoust kvůli svým vlastnostem vyžaduje trochu pozměněnou tiskovou hlavici, ale princip tisku zůstává stejný [30].

Obecný princip tiskových technologií spočívá v nanášení tenkých vrstev vodivého materiálu na pevný nebo pružný substrát. Nedílnou podmínkou je zpracovatelnost tištěných materiálů, které musí být v tekuté formě (roztoku, suspenzi či emulzi). Materiál v tekutém stavu pak nazýváme jako inkoust, nebo pastu v případě metody sítotisku. Inkousty, respektive pasty, mohou být jak anorganického tak organického původu. Anorganické materiály jsou často tvořeny kovovými nanočásticemi jako je hliník, zlato, stříbro, či měď rozptýlenými v organickém rozpouštědle. Nejčastěji se využívají pro přípravu vodivých spojů a pasivních komponent. Na druhé straně organické pasty jsou většinou dobře rozpustné a využívají se jako vodiče, polovodiče či dielektrika [15].

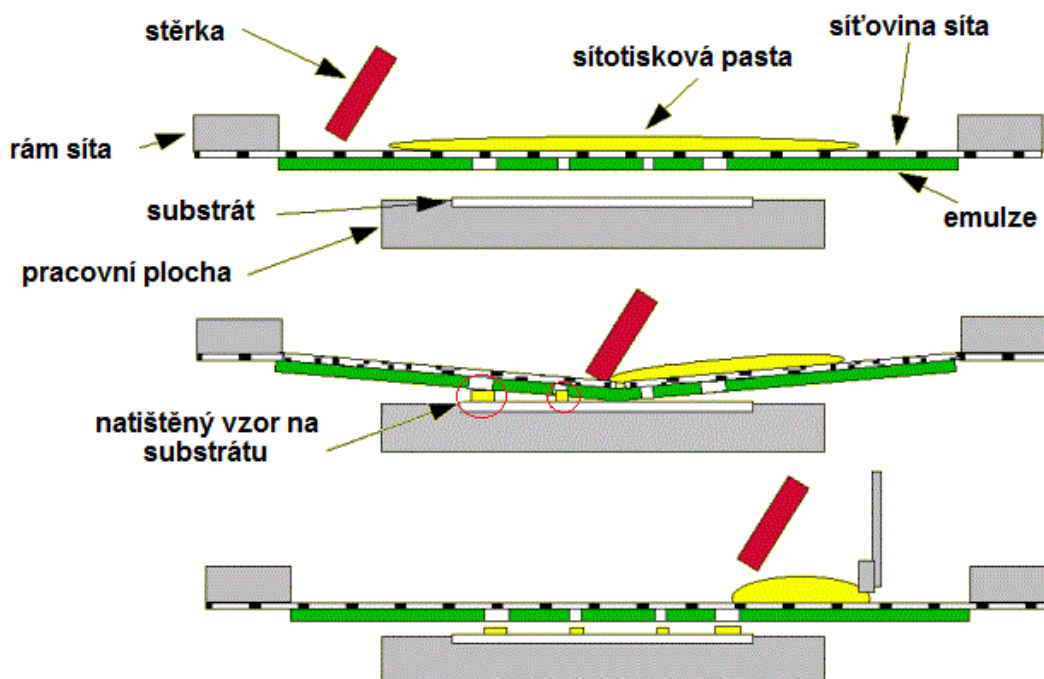
Tiskové technologie můžeme rozdělit na tiskovou formu (kontaktní tisk), kam spadá knihtisk, flexotisk, hlubotisk, ofset a sítotisk, v nichž tiskový přístroj přichází do kontaktu se substrátem, což má za následek nižší kvalitu natištěných struktur. Výhodou těchto zařízení je vysoká výrobní kapacita s velmi nízkými náklady na tisk. Druhou kategorií jsou technologie bez tiskové formy (bezkontaktní tisk), příkladem je injekt, kde substrát přichází do styku pouze s inkoustem nikoli se zařízením určenému k tisku. Výhodou této skupiny technik je, že nemůže dojít k poškození substrátu kontaktem se zařízením. Dále lze tisknout vícevrstvé elektronické zařízení, v tomto případě můžeme hovořit o formě 3D tisku, což kontaktní metody tisku nedokážou v takové míře [15].

### **3.4.1 Sítotisk**

V této práci byla pro přípravu platformy použita technologie sítotisku. Jedná se o rozšířenou metodu určenou pro výrobu vodičů, rezistorů a dielektrik přípravou tištěných tenkých vrstev.

Obecný princip spočívá v nanesení vodivého materiálu ve formě pasty, který je protlačen stěrkou přes síto požadovaného obrazce přímo na substrát. Síto, které je hlavní podstatou sítotiskového stroje, je natažené a pevně upnuté v hliníkovém rámu. Síťovina je potažena vrstvou polymeru, vyjma tištěného vzoru. Kvalita natištěného vzoru odpovídá vzorku síta s definovaným počtem ok na danou plochu. Touto metodou je možné vytvářet přesné vzory ve velkoobjemové produkci s minimálními náklady výchozích materiálů. Kromě toho lze touto technikou připravit vícevrstvé zařízení, což dělá tuto techniku žádoucí pro přípravu organických součástek [31].





Obrázek 13: Princip technologie síťotisku. Stěrka přitlačí síto k substrátu, který se předtím nacházel v určité výšce nad substrátem a jejím pohybem protlačí tiskovou pastu přes volně prostupná oka síťoviny. Pružná síťovina se vlivem napětí navrací do své původní polohy a zanechává za sebou požadovaný obrazec [32].

Kvalita soutisku připravených vrstev metodou síťotisku je závislá na řadě faktorů. Největší vliv na výsledný vzhled vrstev mají parametry jako hustota síta, interval délky mezi sítím a substrátem, tvrdost stěrky, s jakou rychlostí a pod jakým úhlem je pasta na substrát protlačena. Všechny zmíněné parametry jsou spjaté s reologickými vlastnostmi tiskové pasty, zejména pak s její viskozitou, která taktéž ovlivňuje výslednou kvalitu tisku a nepříliš usnadňuje optimalizaci tisku určité tiskové pasty [15].

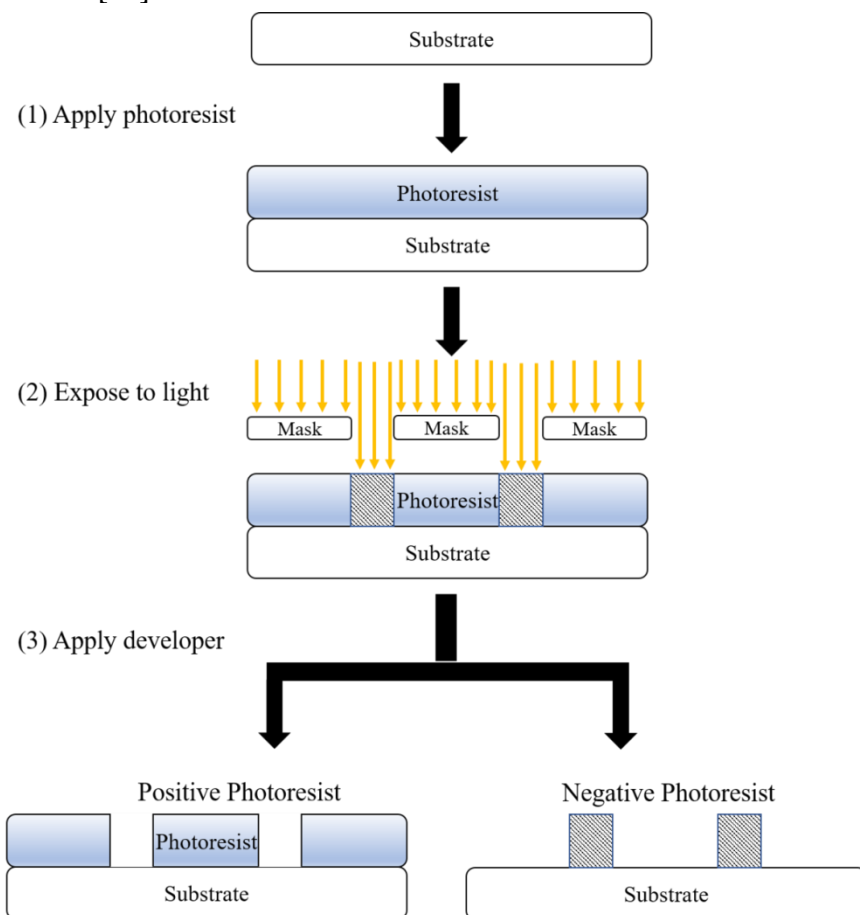
### 3.5 Fotolitografie

Těž optická litografie je proces tvorby integrovaných obvodů selektivní optickou expozicí fotosenzitivního polymeru (fotorezistu) ultrafialovým světlem. V prvním kroku se substrát chemicky očistí, aby se odstranily částičky jakýchkoliv stop organických, iontových či kovových nečistot na jeho povrchu. V dalším kroku je substrát potažen látkou citlivou na světlo (fotorezist) a vystaven UV záření. Osvětlením fotorezistu skrze masku, která je nejčastěji vyrobena z neprůhledného chromového prvku na průhledném křemenném skle, vyvolá selektivní expozici, při které se exponované oblasti substrátu rozpustí a vytvoří se vzor [33].

V důsledku osvětlení fotorezistu UV zářením dochází uvnitř exponovaných částí fotorezistu k lokalizovaným chemickým reakcím, které mění jeho rozpustnost a vytvářejí odlišné fotorezistní vlastnosti. Fotorezisty jsou klasifikovány buď jako negativní nebo pozitivní, což závisí na rozpustnosti polymeru, která je buď zvýšena, nebo naopak snížena optickou expozicí. U pozitivních rezistů je fotorezist vystaven UV záření všude, kde se má podkladový materiál odstranit. Rezist se vlivem UV záření stává více rozpustným a odkrytá vrstva rezistu je vymyta roztokem a zůstávají po ní jen prázdná místa. Maska fotorezistu



vytváří přesnou kopii vzoru, která má zůstat na substrátu. Negativní rezist se chová přesně naopak. Po vystavení UV záření se negativní rezist zpolymerizuje a stává se obtížněji rozpustným. Negativní rezist zůstává všude, kde byla vrstva odkryta a neexponované části jsou vymyty roztokem. Níže uvedený Obrázek 14 ukazuje rozdíly ve vzoru negativního a pozitivního rezistu [34].



Obrázek 14: Schéma fotolitografického procesu. (1) Na substrát je nanášena vrstva fotorezistu. (2) Fotorezist je vystaven UV záření, které prochází skrze masku. (3) Po ozáření se fotorezist vymyje speciálním roztokem (developer) [35].

Fotorezisty jsou obvykle zpracovávány v kapalně formě, která je docílena přidáním rozpouštědel a v tenkých vrstvách jsou jimi potahovány vhodné substráty procesem zvaným zvlákňování. Během procesu zvlákňování odstředivé síly vlivem poměrně vysoké rychlosti vyvíjejí tlak na substrát potažený polymerem a snižují jeho tloušťku a viskozitu. Lze tak získat tloušťky vrstev v rozmezí od desítek nanometrů do stovek mikronů [33].

Fotolitografie je velmi složitá technika vyžadující jak extrémně čistý povrch substrátu, tak ideální teplotní podmínky. Technika umožňuje provádět přesnější řezy, ale lze ji použít pouze k výrobě plochých povrchů [36].

### 3.6 Substráty

Protože výroba organické elektroniky probíhá za laboratorní teploty, je možné využít řadu materiálů od tepelně stálých (sklo) až po tepelně nestálé (papír, plast).

Před jakoukoli manipulací se substrátem je nutné materiál nejdříve očistit z důvodu nedostatečné čistoty povrchu a nevyhovující povrchové energie. Očištěním substrátu se povrch materiálu zbaví usazených částic nečistot a sníží se povrchová energie, čímž se dosáhne lepší adheze použitého inkoustu či pasty.

Proces čištění substrátu je upravován sérií čistících kroků, které probíhají v roztocích položených v ultrazvukové lázni po specifickou dobu. Dle charakteru substrátu se volí roztok. První lázeň většinou obsahuje roztok tenzidu, jehož přidáním se sníží povrchové napětí rozpouštědla, které je schopné lépe rozpouštět nečistoty. V dalších krocích se volí čisté roztoky, nejčastěji destilovaná voda, které substrát dokonale zbaví zbytků tenzidu a nečistot [37].

Čištění plazmatem je standardní postup úpravy povrchové energie materiálů. Spočívá v aktivaci hydroxylových a karboxylových skupin svrchní vrstvy materiálu, čímž se vytvoří vodíkové můstky mezi substrátem a inkoustem. Tím se sníží kontaktní úhel mezi kapkou a svrchní vrstvou substrátu, čili se zvýší smáčivost jeho povrchu.

#### 3.6.1 Úpravy po natisknutí vrstvy

Po nanesení výsledných struktur na substrát je nutno odpařit rozpouštědla z použitých inkoustů. Účelem odpaření rozpouštědla je stabilizace a odolnost natištěných struktur v prostředí testovaných roztoků. K odpaření rozpouštědla dochází už během průběhu tisku za laboratorní teploty. Tento proces je však zdoluhavý a jeho efekt lze urychlit navýšením teploty, kdy se substrát s natištěnou vrstvou umístí na vyhřívanou podložku s přesně nastavitelnou teplotou. Natištěná vrstva se nechá zahřívat při určité teplotě po určité době, čímž se odpaří rozpouštědlo a vytvrdí inkoust.

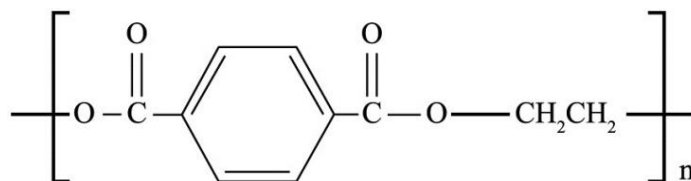
U inkoustů obsahujících metalické nanočástice je nutné odpařit nejen rozpouštědlo, ale také zapéct nanočástice kovu tak, aby vznikla co možná nejhomogennější vrstva s co nejvyšší vodivostí. Maximální teplota, kterou je možné použít, je závislá na použitém substrátu a jeho tepelné odolnosti. V případě použití tenkých polymerních fólií jsou pracovní teploty nižší než při použití tepelně dobře odolných substrátů typu skla. Po překročení maximální teploty substrátu dochází k deformacím, které bývají zpravidla nevratné a substrát se stává nevhodným pro následné použití [37].

#### 3.6.2 Polyethylentereftalát (PET)

Je termoplastický polymer, který se vyrábí polymerací ethylenglykolu a kyseliny tereftalové, jehož monomer, ethylen tereftalát, je znázorněn na Obrázek 15.

Polyethylentereftalát má zajímavé fyzikální vlastnosti. Přítomnost aromatického kruhu v struktuře dává polymeru značnou tuhost a pevnost, zejména když jsou polymerní řetězce vzájemně uspořádány v semikrystalické formě. Má vynikající odolnost vůči většině rozpouštědel, s výjimkou zásad. Rozsah pracovních teplot je -40 až 115 °C, avšak empirická zkušenost odhaduje zpracování tohoto polymeru kolem 90 °C, při vyšších teplotách polymer

prochází nevratnou deformací. Další nevýhodou je drsnost povrchu, což je nežádoucí znak pro ukládání tenkých vrstev [38].



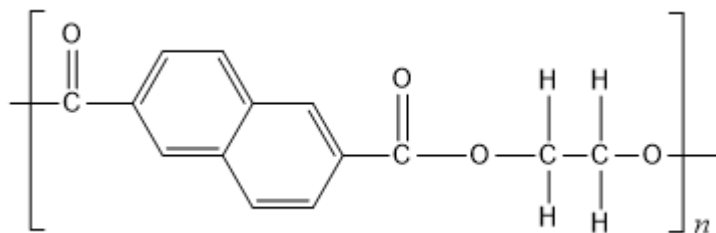
Obrázek 15: Struktura monomeru Polyethylenetereftalátu [39].

### 3.6.3 Polyethylen-naftalát (PEN)

Polyethylen-naftalát je další termoplastický polymer, který je vyroben polykondenzací ethylenglykolu a 2,6-naftalendikarboxylátu. Jeho monomerní struktura je znázorněna na Obrázek 16.

Stejně jako PET se tento polymer používá jako substrát a je určený jako náhrada PET, zejména při použití jako podkladu pro flexibilní integrované obvody. Oproti PET má lepší chemické a fyzické vlastnosti. PEN může být zahřátý na 180 °C, při vyšší teplotě dochází k deformaci materiálu. Má nižší drsnost povrchu, což činí tento polymer vhodnějším podkladovým materiálem pro nanášení tenkých vrstev.

Pro naše účely byl použit tento materiál jakožto vhodný substrát pro nanášení tenkých vrstev.



Obrázek 16: Struktura monomeru Polyethylen-naftalátu [40].

## 4 INSTRUMENTÁLNÍ ČÁST

V této části jsou uvedené přístroje, pomocí kterých jsme byli schopni naměřit požadované parametry platformy pro účely její optimalizace, výrobního procesu a stability.

K tisku snímače pro monitorování a elektrickou stimulaci buněčných kultur na bázi organických polovodičů byla využita technologie sítotisku. Technologií sítotisku RokuPrint Screen printing machine SD 05 (Obrázek 17) byly natisknuty vodivé vrstvy na substrát s možností přesného nastavení parametrů, jako je rychlost tisku, přítlak, úhel stěrky, počátek a konec tisku a další.



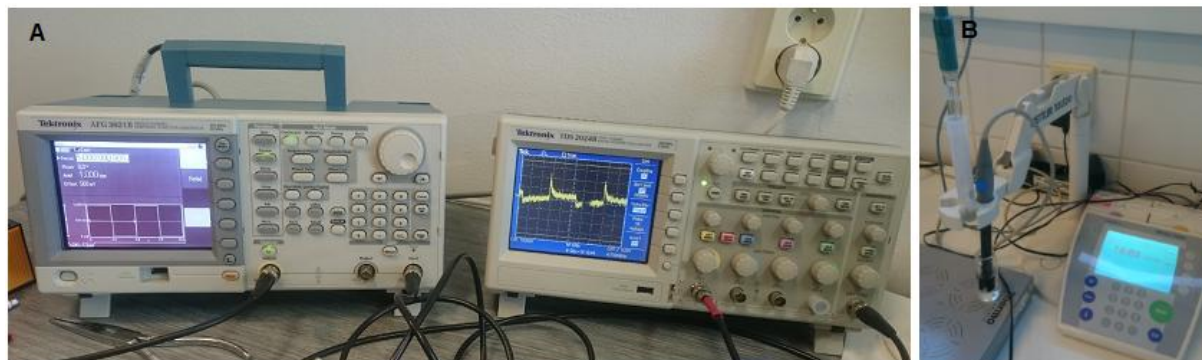
*Obrázek 17: Sítotiskový stroj.*

Vzhled kvality tisku připravených vrstev za účelem ověření správného soutisku byl pozorován optickou mikroskopií a profilometrem. Pro vizuální zhodnocení kvality tisku hotových vrstev sloužil optický mikroskop Nikon Eclipse E200 s kamerou Nikon D5000. Morfologie povrchu vrstvy, respektive její tloušťková homogenita, byla změřena pomocí profilometru DetakXT od firmy Bruker (Obrázek 18). Klíčovou součástí přístroje je hrot (stylus), který přejede požadovaný úsek připravené vrstvy a z rozdílů výškových odchylek pomocí softwaru stanoví výšku vrstvy. Jedná se o přímou metodu, u které není zapotřebí složité aparatury, nýbrž jen nastavit program spojený s následným měřením.



*Obrázek 18: Profilometr DetakXT od firmy Bruker, na levé straně s přiblížením na hrot.*

Pro měření elektrických vlastností senzorů byly použity následující přístroje. Pro měření napětíových signálů byl použit generátor Tektronix AFG 3021B s osciloskopem Tektronix TDS 2024B společně propojené s na míru vyrobeným zesilovačem (Obrázek 19 (A)). Měřený odpor byl zaznamenán voltmetrem a konduktivita (elektrická vodivost) byla proměřena konduktometrem METLER TOLEDO seven multi (Obrázek 19 (B)). Konduktometr se sestává z měrné cely, která měří konduktivitu pomocí vodivostní IDS sondy s vestavěným teplotním čidlem.



Obrázek 19: (A) Nalevo generátor Tektronic AFG 3021B s nastaveným vloženým napětím, napravo osciloskop Tektronix TDS 2024B s vykreslujícím časovým průběhem napětíového signálu. (B) Konduktometr METLER TOLEDO seven multi s měrnou celou a digitálním převodníkem.

## 5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část bude soustředěna na postup výroby námi připravovaných elektrofyziologických biosenzorů pro monitorování a elektrickou stimulaci buněčných kultur. Platforma bude navržena za účelem řízené proliferace a diferenciaci kmenových buněk v jednotlivých senzorických celách žadáním směrem. Jinak řečeno z nediferencovaných kmenových buněk pomocí elektrických pulzů se stanou diferenciované buňky srdeční - kardiomyocyty, popřípadě buňky nervové - neurony. Stimulační platforma s 24-mi jednotlivými senzory seřazenými v šesti řadách po čtyřech senzorech byla vyrobena metodou sítotisku, jehož popisem se zabývá kapitola 3.4.1.

### 5.1 Platforma se stříbrnými elektrodami

Podstatou připravovaných senzorů jsou mikroelektrodová pole (MEA), jejichž popisem funkce se zabývá kapitola 3.2.1.

Příprava senzoru se skládá z řady procesů upravující vlastnosti povrchu substrátu, tiskových past a jejich sítotisku. Celkový proces přípravy vytvořených vrstev lze rozdělit do dílčích po sobě jdoucích kroků.

Základní deskou stimulační platformy je substrát. Jako substrát byl použit polyethylen naftalát (PEN) s šířkou 250  $\mu\text{m}$  a plochou 12,3 x 8,9 cm (Goodfellow Cambridge Ltd., Huntingdon, UK), jehož povrchové vlastnosti byly upraveny sérií třech čistících kroků ultrazvukové lázně. Každá lázeň trvala přibližně 15 minut. První krok ultrazvukové lázně obsahoval po okraj naplněnou kádinku s destilovanou vodou s přísadkou tenzidu neodisher LM3 s vloženým substrátem. Druhá lázeň obsahovala jen destilovanou vodu a v posledním čistícím kroku byl substrát opláchnut isopropylalkoholem a vysušen do sucha.

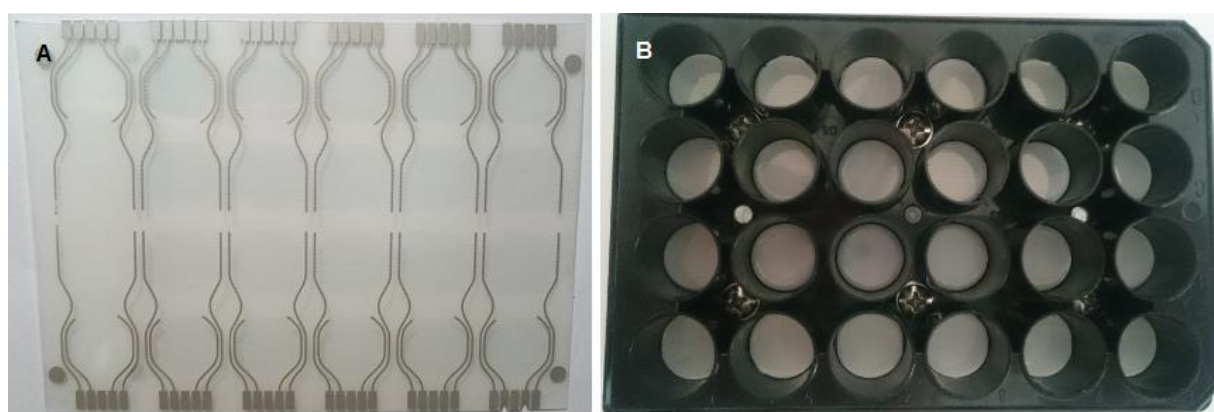
Na takto očištěný substrát byly natisknuty tenké vrstvy jednotlivých materiálů metodou sítotisku (Obrázek 20 (A)). Nejdříve byla natisknuta vrstva stříbrné vodivé pasty s výrobním označením FLEXIBLE SILVER PASTE od výrobce Gwent Group of Companies. Vrstva byla ručně tištěna přes síto na substrát z výšky 2 mm při nízké rychlosti, se silným přitlakem, pod úhlem 45°, přes síto 61 F (síto se 61 vláken na centimetr). Použitá síta byla na zakázku pořízena firmou SERVIS CETRUM a.s. Substrát s čerstvě natištěným sítotiskem stříbrných obvodů byl pozorován pod optickým mikroskopem pro kontrolu správně natištěných spojů a následně byl vytvrzen na vyhřívané podložce při 140 °C za přibližně 15 minut.

Po vytvrzení stříbrných spojů byl substrát upevněn k podložce sítotisku a pomocí otáčivých šroubů byl zaměřen tiskový vzor síta pro polovodivý materiál PEDOT:PSS. Po zaměření síta byla natisknuta vrstva PEDOTu:PSS ze sítotiskové pasty Clevios S V3 od výrobce Heraeus Holding GmbH. Ještě před samotným tiskem byla pasta přes noc ponechána na magnetické míchačce, kde byl její obsah intenzivně míchán při 500 otáčkách za minutu za teploty 40 °C, aby se snížila viskozita pasty a zlepšila se tloušťková homogenita připravených vrstev. Vrstva polovodivého materiálu byla opět ručně tištěna přes síto 140 F na substrát z výšky 2 mm při vyšší rychlosti, než vrstva stříbrných vodičů, s přitlakem naopak menším, protože PEDOT má větší tendenci se rozmazávat a při naklonění stěrky pod úhlem 45°. Při zaměřování síta na již natisknutý vzor bylo síto mírně odsunuto proti směru tisku, protože přitlak a pohyb stěrky tuto odchylku odstraňují a dochází tak k přesnějšímu sítotisku vrstev. Natištěná vrstva byla opět zkontrolována pod optickým mikroskopem pro správný sítotisk jak čerstvě natištěné vrstvy, tak pro co nejpřesnější shodu navrstvení tištěných vzorů. Nakonec

byl substrát s takto připravenými vrstvami dán na vyhřívanou podložku o teplotě 140 °C přibližně na 15 minut, dokud se vrstva nevytvdila. Obrázek 20 zobrazuje vytvrzené tištěné spoje.

Před zkompletováním platformy bylo třeba změřit odpor vodivé vrstvy, respektive zjistit, jestli v nějakém ze senzorů nedochází ke zkratům. Jestliže jsou vrstvy správně natištěné a není zde jiný defekt materiálu, je výsledný senzor v pořádku. V opačném případě dochází u senzoru ke zkratu.

Jestliže senzory žádný defekt nevykazují, popřípadě jsou vodivé spoje opraveny, může se přejít ke zkompletování stimulační platformy. Na pevnou podložku byl uložen pružný substrát s natisknutými tenkými vrstvami, ke kterému byl silikonem přilepen a šrouby přichycen spodek 24 jamkové platformy pro monitorování a elektrickou stimulaci buněk (Obrázek 20 (B)). Nakonec byla platforma dána na vyhřívanou podložku na 50 ° pro vytvrzení silikonu.



Obrázek 20: (A) Výsledná série 24 senzorů natištěná na PEN substrát. Šedě jsou vodivé spoje ze stříbra, modře je polovodivý materiál PEDOT:PSS. (B) Zhotovená stimulační platforma se sérií senzorů.

## 5.2 Měření napět'ových signálů

Pro správnou funkčnost a spolehlivost senzorů jsou důležité elektrické vlastnosti. Cílem tohoto měření bylo zjistit, zda je napětí po celé ploše každého ze senzorů stejné. Snahou je mít po celé ploše homogenní napětí a zároveň vkládat takové (nízké) napětí, aby stimulací napět'ovými pulzy nebyly kultivované buňky usmrceny. Generátorem funkcí bylo generováno napětí s periodickým průběhem, s nastavitelnou frekvencí a dlouhou amplitudou pro záznam jednotlivých pulzů, viz. Tabulka 1. Odezva byla pozorována přes osciloskop, který vykresloval časový průběh měřeného napět'ového signálu.

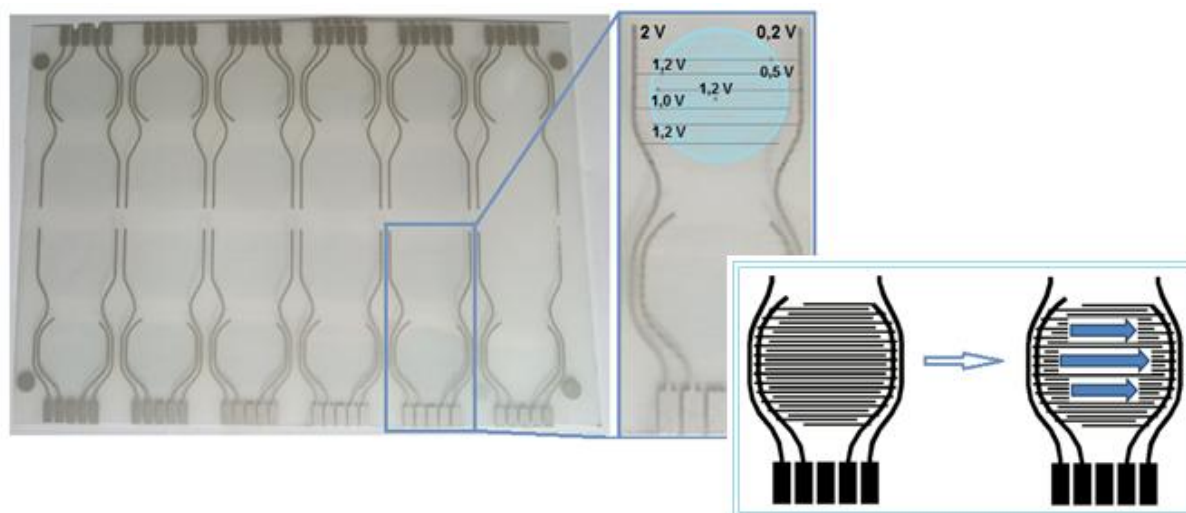
Tabulka 1: Nastavené parametry na generátoru.

<b>funkce</b>	"square" (čtvercová)
<b>frekvence</b>	600 s <sup>-1</sup>
<b>amplituda</b>	1 V <sub>pp</sub>
<b>offset</b>	500 mV

Ze získaných hodnot z výstupu oscilátoru je patrné, že výstupní napětí není po celé ploše senzoru stejné. Na levé elektrodě je výstupní napětí 2 V, na pravé elektrodě je výstupní napětí



0,2 V, což vykresluje Obrázek 21. To znamená, že proud prochází pouze jedním směrem, a to zleva doprava. Abychom zjistili, proč proud prochází pouze jedním směrem, byla proměřena tloušťka vrstvy PEDOTových prstů na profilometru a změřena měrná elektrická vodivost živného roztoku PBS na konduktometru



Obrázek 21: Hodnoty výstupního napětí jednoho senzoru platformy získané osciloskopem. Modře je pufr PBS, tmavě šedě stříbrné elektrody a světle šedě PEDOTové prsty. Obrázek vpravo dole ukazuje směr napětí.

### 5.2.1 Měření profilu vrstvy

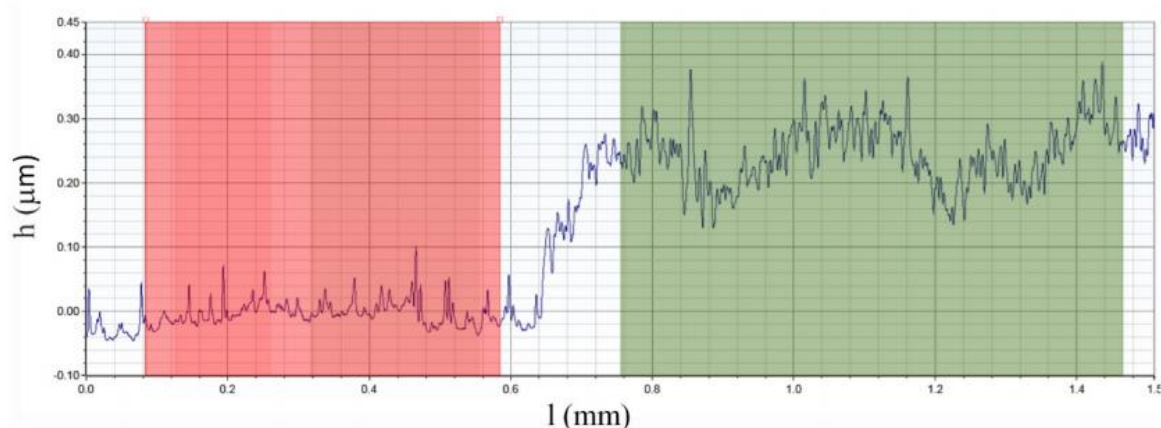
Elektrické vlastnosti každého senzoru také závisí na kvalitě tisku, respektive na tom mít všechny tištěné materiály s co možná nejvyšším plošným rozlišením, tedy se stejným tvarem a totožnou tloušťkovou homogenitou vrstvy. Jelikož jsou kationty vtačovány do vrstvy polymeru a vytlačovány zpět z vrstvy, je důležité, aby vrstva v celé své ploše měla rovnoměrnou tloušťku. Protože rozdílné tloušťky vrstvy způsobí různě vodivé oblasti.

Protože naměřená data napěťových signálů nebyla totožná a elektrické vlastnosti souvisí s kvalitou tisku vrstvy, byla provedena série pokusů pro vybranou vrstvu polovodivého materiálu se snahou zjistit, jestli je výška PEDOTových prstů homogenní po celé ploše senzoru. Před měřením byl substrát PEN podlepen skličkem, aby nedocházelo k vlnění povrchu substrátu a tedy k falešným výsledkům. Tloušťky vrstev byly naměřeny tak, že hrot profilometru přešel přes substrát a následně přešel na vrstvu PEDOTu. Software profilometru z rozdílů výškových odchylek stanovil průměrnou tloušťku vrstvy polovodivého materiálu. Měření bylo provedeno třikrát a výsledkem měření je průměrná hodnota, Tabulka 2.

Tabulka 2: Výsledné tloušťky PEDOTových prstů.

Číslo měření	Tloušťka vrstvy [ $\mu\text{m}$ ]
1	0,282
2	0,229
3	0,238
<b>průměr:</b>	$0,250 \pm 0,01$





Obrázek 22: Ilustrační výstup profilometrického měření tloušťky vrstvy sítotiskové pasty.

### 5.2.2 Měření konduktivity pufru

Elektrické materiály posuzujeme podle jejich měrné elektrické vodivosti. Měrná konduktivita charakterizuje schopnost materiálu vést elektrický proud a je úměrná koncentraci volných nosičů elektrického náboje v elektrickém poli. Čím větší je vodivost, tím silnější elektrický proud prochází vodičem při stejném napětí.

K dispozici jsme měli tři vzorky pufrů vhodné pro kultivaci buněk. Vzorky pufrů byly přefiltrovány a kvantitativně převedeny přes filtr s propustností  $0,45\ \mu\text{m}$  do Erlenmayerových baněk, čímž se roztok zbavil nadbytečných nečistot. Nakonec byly vzorky přes noc ponechány na vyhřívané podložce na  $50\ ^\circ\text{C}$ , protože samotná kultivace buněk standardně probíhá při teplotě  $37\ ^\circ\text{C}$  a my jsme se chtěli této hodnotě při měření přiblížit. Avšak manipulace vzorků - jejich přenesení z místnosti A do místnosti B a kvantitativní převedení malého množství vzorku do 5 ml kádínek pro následné měření, měla za následek rychle se snižující teplotu vzorku. Takže při samotném měření jsme se s teplotou měřeného vzorku dostali pod hodnotu  $37\ ^\circ\text{C}$ .

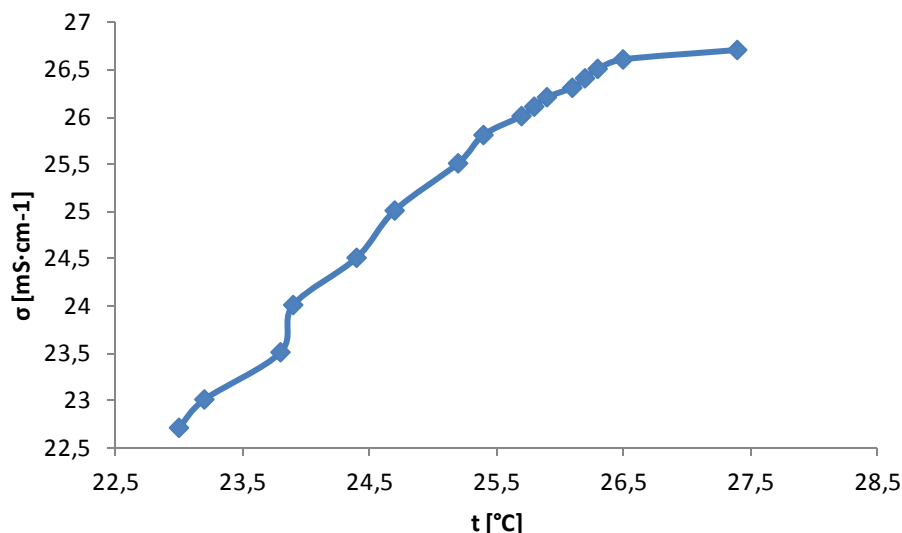
Do kádinky s pufrům byla vložena měrná cela konduktometru, která zaznamenávala hodnoty konduktivity pomocí vodivostní IDS sondy s vestavěným teplotním čidlem pro záznam aktuální teploty během měření vodivosti. Pro každý vzorek bylo měření provedeno třikrát,

Tabulka 3.

Tabulka 3: Naměřené hodnoty měrné elektrické vodivosti pufrů.

Pufr	Konduktivita [ $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ]		
HBSS	17,12	16,83	16,65
PBS5	22,7	22,4	22,3
PBS <sub>staré</sub>	19,19	19,13	19,13

Protože při klesající teplotě klesá i vodivost měřeného pufru, Obrázek 23, byl každý vzorek proměřen znova. Tentokrát při zachování stejné teploty, abychom mohli kvantitativně zhodnotit a porovnat jejich výsledné vodivosti. Zvolená teplota byla  $20,5\ ^\circ\text{C}$ .



Obrázek 23: Graf závislosti elektrické vodivosti pufru PBS5 na teplotě. S narůstající teplotou roste konduktivita.

Tabulka 4: Naměřené hodnoty měrné elektrické vodivosti pufrů při teplotě 20,5 °C.

Pufr	Měrná konduktivita [mS·cm <sup>-1</sup> ]
HBSS	16,30
PBS5	22,4
PBS <sub>staré</sub>	19,31

Největší vodivost měl pufr PBS5, jehož přítomnost byla nadále využita při optimalizačních krocích prototypu stimulační platformy. Protože elektrická vodivost  $\sigma$  je vlastně obrácenou hodnotou pro měrný odpor  $\rho$ , tak jednoduchou matematickou úpravou byl vypočítán měrný odpor živného roztoku PBS5  $\rho = 50 \Omega\text{cm}$ .

PBS (Phospahte Buffered Saline) je pufrový fyziologický roztok obecně používaný v biologickém výzkumu. Tento vodní roztok se skládá z hydrogenufosforečnanu sodného a chloridu sodného nebo chloridu draselného a dihydrogenfosforečnanu draselného. Pufr napomáhá udržovat konstantní hodnotu pH. Jeho koncentrace iontů a osmolarita úzce napodobuje ty v lidském těle [41].

Námi používaný roztok PBS s koncentrací fosfátového pufru 0,01 M, koncentrací chloridu sodného 0,154 M a pH 7,4, byl zakoupen od firmy Sigma Aldrich a byl použit jako elektrolyt pro testování všech senzorů a kultivaci buněčných kultur.

### 5.2.3 Měření odporu PEDOTových prstů

Voltmetrem byly změřeny prsty PEDOTu, přičemž každý prst v rámci jednoho senzoru měl jinou délku. Nejkratší délka PEDOTového prstu měla 10 mm a naopak nejdelší 14 mm. Z důvodu nesouměrnosti délek PEDOTových prstů se hodnoty naměřených odporů lišily. Pohybovaly se okolo 65 - 140 k $\Omega$ . Na prst s délkou 10 mm připadá odpor s přibližnou hodnotou 100 k $\Omega$ .

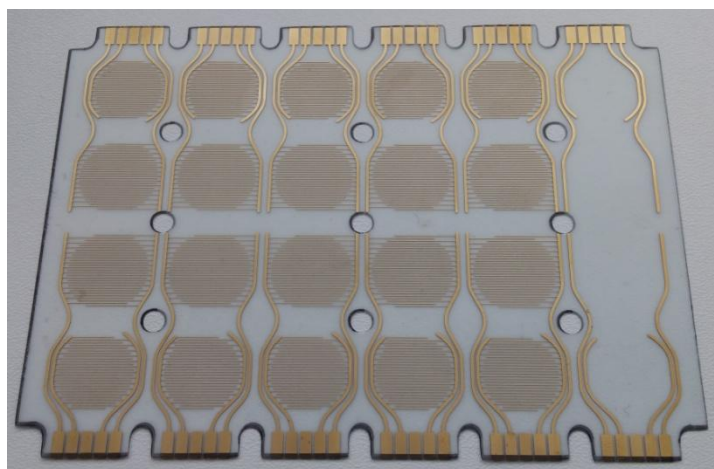
Plošný odpor PEDOTových prstů IDE elektrod je okolo  $3 \text{ k}\Omega/\square$ . Při vzdálenosti prstů elektrod  $0,5 \text{ mm}$  a délce  $10 \text{ mm}$  je odpor jednoho prstu  $60 \text{ k}\Omega$  a při délce  $14 \text{ mm}$  je odpor roven  $80 \text{ k}\Omega$ . Elektrolyt má měrnou vodivost  $20 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ , tedy měrný odpor  $50 \text{ }\Omega\text{cm}$ . Při vzdálenosti prstů elektrod  $0,5 \text{ mm}$ , šířce  $0,2 \text{ mm}$ , délce  $14 \text{ mm}$  a efektivní hloubce elektrolytu podílející se na vedení proudu  $1 \text{ mm}$ , je plošný odpor živného roztoku PBS  $0,5 \text{ }\Omega/\square$ .

Při srovnání plošných odporů PEDOTu:PSS  $3 \text{ k}\Omega/\square$  a elektrolytu PBS  $0,5 \text{ }\Omega/\square$  je na první pohled znát, že elektrolyt má o čtyři řády nižší plošný odpor, než prsty z PEDOTu. Elektrolyt je tak mnohonásobně vodivější než PEDOTové prsty. Pro správnou funkčnost senzoru musí být prsty elektrod vodivější než použitý roztok, aby jím procházel proud. Jestliže je roztok vodivější než prsty elektrod, proud teče převážně elektrolytem, cestou nejmenšího odporu, rovnoběžně s prsty elektrod. Je zde jen kontakt s elektrolytem. V takovém případě jsou prsty elektrod tak málo vodivé, že jimi neprochází téměř žádný proud a působí v elektrickém obvodu spíše jako izolant.

Nabízí se řešení náhrady dosavadního materiálu za materiál vodivější. V úvahu připadá uhlíková pasta, která má plošný odpor  $7,5 \text{ }\Omega/\square$  a je tak na hraně použitelnosti, jakožto dostatečně vodivý materiál, neboť se blíží svou hodnotou plošného odporu pufru PBS. Nebo použití zlaté pasty  $80 \text{ m}\Omega/\square$ , která má plošný odpor ještě o několik řádů nižší a je vhodnějším kandidátem. Tato pasta je ale drahá ( $2200 \text{ euro}$  za  $25 \text{ g}$ ) a nemáme dostupné informace o její biokompatibilitě. Levnějším řešením by byl tisk zmíněnou uhlíkovou pastou.

### 5.3 Platforma s pozlacenými interdigitálními elektrodami

Protože platforma se stříbrnými elektrodami nebyla dostatečně vodivá, byla nahrazena novou pozlacenou platformou s interdigitálními elektrodami. Základem je flexibilní substrát PEN fólie s výrobním názvem AKAFLEX® PENCL HT Akaflex® zakoupený od firmy Krempel Group s tloušťkou filmu  $50 \text{ }\mu\text{m}$ , na které je nalaminovaná vrstva  $17 \text{ }\mu\text{m}$  mědi. Na tento substrát bylo na zakázku v Gatemě provedeno pozlacení. Zlatá vrstva, která obsahuje příměs kobaltu, má tloušťku  $1 \text{ }\mu\text{m}$  a je na substrát nanášena galvanicky. Mezivrstvou tvoří tenká vrstva niklu o tloušťce  $5 \text{ }\mu\text{m}$ , která je zde pro zlepšení adheze vrstev mědi se zlatem Obrázek 24.



Obrázek 24: Platforma s pozlacenými interdigitálními elektrodami.

Před tiskem polovodivé vrstvy na takto zhotovenou platformu byly porovnány odpory dostupných sítotiskových past PEDOT Clevios S V3 a SA, Tabulka 5.

Tabulka 5: Porovnání odporu polovodivých sítotiskových past PEDOT SV3 a SA, převedené na  $k\Omega$ .

S V3 [ $k\Omega$ ]		SA [ $k\Omega$ ]	
2,9	2,5	0,8	0,9
2,8	2,7	0,9	0,9
2,4	2,1	0,9	0,7
3,4	4,1	1,2	1,0
4,1	2,7	1,1	1,0
4	4	1,2	1,0
<b>průměr:</b>	3,1	<b>průměr:</b>	1,0

### 5.3.1 Analýza toxicity uvolněných iontů pozlacené platformy

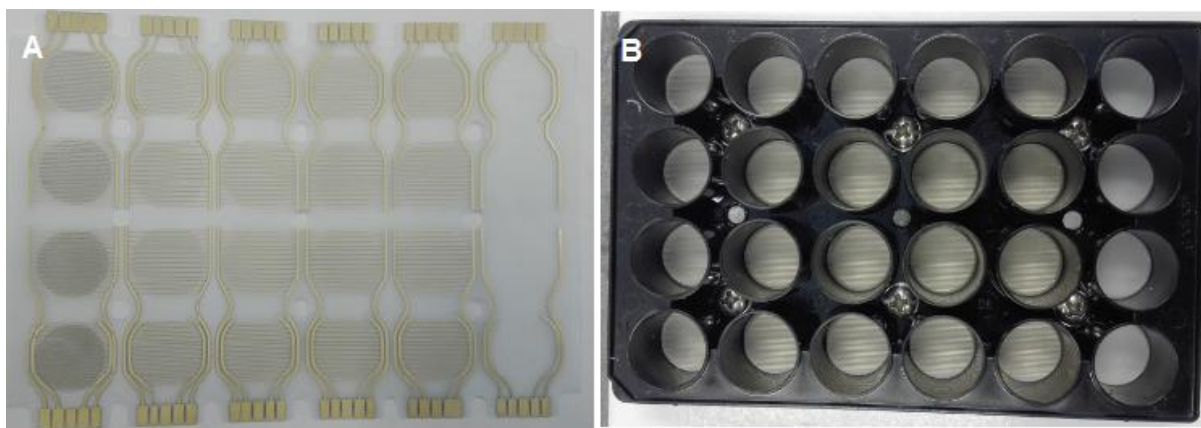
Důležitý parametr definující možnost využití materiálu v biologickém prostředí je jeho biokompatibilita. Testování biokompatibility materiálů je důležitým krokem před jejich použitím ke konstrukci zařízení, které interaguje s buňkami či živou tkání. Biokompatibilní materiál se posuzuje podle interakce s prostředím. Důležité je, aby materiál neuvolňoval potenciálně toxické látky. Je známo, že řada kovů je toxická, proto byla testována toxicita vyloučených iontů ze stimulační pozlacené platformy s interdigitálními elektrodami.

S využitím vodných kalibračních roztoků ASTASOL od výrobce Český Metrologický Institut byla vytvořena kalibrační křivka, a to za použití standardů pro nikl, kobalt a měď. Z těchto standardů byly připraveny roztoky o koncentracích 1, 5 a 10 mg/l, jinak řečeno do 10 ml baněk byly přes filtr s propustností 0,45  $\mu$ l přefiltrovány a kvantitativně převedeny roztoky o objemech 10, 50 a 100  $\mu$ l, které byly po rysku doplněny živným roztokem PBS. Čistý pufr PBS sloužil pro slepý pokus.

Ústřížek pozlacené platformy o rozměrech 1x1 cm byl po hranách zalepen silikonem a vytvrzen na vyhřívané podložce. Posléze se několik hodin nechal louhovat v živném roztoku PBS a pak se vzorek přenesl na analýzu.

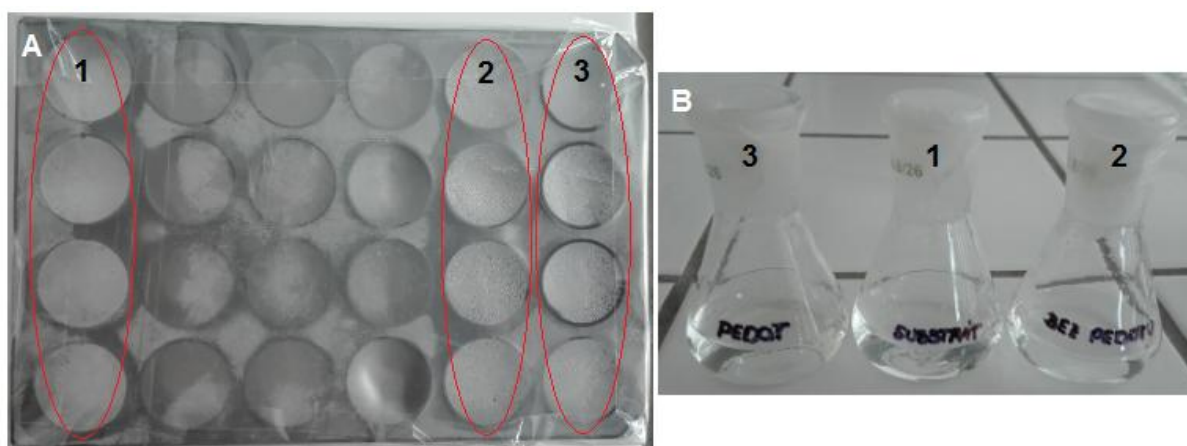
Výsledky nebyly uspokojivé, jelikož v měřeném vzorku bylo příliš vysoké množství vyloučeného niklu o koncentraci 200 mg/l, kterou bylo třeba snížit až stonásobně. Dalším iontem, který bylo třeba z roztoku vyloučit, byla měď o koncentraci 10 mg/l.

Pro další experimenty byla sestavena platforma. Substrát s pozlacenými spoji byl očištěn třemi kroky ultrazvukové lázně, každá trvala 15 minut. V prvním kroku lázně byl substrát vložen do kádinky s destilovanou vodou a přídavkem tenzidu. V druhém kroku lázně byl substrát jen v destilované vodě a ve třetím kroku byl substrát očištěn isopropylalkoholem. Na takto očištěný substrát byla natisknuta v jedné řadě tenká vrstva PEDOTu Obrázek 25 (A). Vrstva PEDOTu byla ručně tištěna přes síto 140 F na substrát, z výšky 2 mm, s rychlejším tempem soutisku a se slabým přitlakem. Substrát s natištěnou vrstvou byl ponechán na vyhřívané podložce na 120 °C přibližně 30 minut. Platforma byla zkompletována Obrázek 25 (B) stejným způsobem jako v kapitole 5.1 a při teplotě 40 °C byla přes noc ponechána na vyhřívané podložce pro vytvrzení silikonu.



Obrázek 25: (A) Série 24 senzorů natištěná na substrát. Zlatě jsou vodivé spoje ze zlata, modře je v jedné řadě natištěná tenká vrstva polovodivého materiálu PEDOT:PSS. (B) Zkompletovaná stimulační platforma se sérií senzorů.

Do každé z označených cel Obrázek 26 (A) bylo pipetou napipetováno 2,5 ml živného roztoku PBS. V první řadě po čtyřech celách byl pouze samotný substrát, v druhé řadě byl substrát s interdigitálními pozlacenými elektrodami a v poslední řadě byl substrát s pozlacenými interdigitálními elektrodami s natištěným PEDOTem. Platforma s takto naplněnými celami byla obalena parafilmem a oblepěna lepicí páskou, aby se nic neodpařilo a zároveň se do roztoku nedostaly nečistoty. Platforma byla na 3 dny ponechána v sušárně na 37 °C, což je kultivační teplota pro buněčné kultury, kde se vzorky louhovaly. Po uplynutí této doby byl obsah všech tří vzorků kvantitativně převeden do Erlenmeyerovy baňky Obrázek 26 (B) a předán k analýze.



Obrázek 26: (A) Platforma obalená parafilmem. (1) PBS na samotném substrátu. (2) PBS na pozlacených interdigitálních elektrodách. (3) PBS na pozlacených interdigitálních elektrodách s natištěnou vrstvou PEDOTu. (B) Vylouhované vzorky připravené k analýze.

Analýza toxicity vzorků byla prováděna metodou ICP-spektrometrie, která slouží ke stanovení obsahu stopových i významných koncentrací jednotlivých prvků analyzovaného vzorku.

Vzorek čistého substrátu vymývaný roztokem PBS, který zároveň sloužil jako kontrolní, neobsahoval žádnou ze složek Ni, Cu nebo Co Obrázek 27. Vzorek s pozlacenými interdigitálními elektrodami už vykazoval toxickou koncentraci niklu pro buňky a v malé



koncentraci se tu objevila i měď Obrázek 28. Tenká vrstva polovodivého polymeru PEDOTu množství vyloučeného kovu ještě navýšila Obrázek 29. Pro odstranění toxických kovů jsme se rozhodli substrát čistit pomocí zředěných kyselin.

Name: <b>vzorek 1</b>		Type: Analysis	#: 3	Rack: 2	Tube: 3	Weight: 1.0000	Volume: 1.00	Dilution: 1.00
WaveLength Calibration =>		Element: C	Ref.: 193.026	Calc.: 193.0106	Offset: -0.0025			
2:24:32PM	Co	228.616	55 325.38			55 325.38	0.00	0.00
2:24:38PM	Co	228.616	52 799.17			52 799.17	0.00	0.00
2:24:43PM	Co	228.616	52 417.53			52 417.53	0.00	0.00
[Co] = 0.00 mg/l			RSD: 22.74 %	Offset: 0.0022				
2:24:50PM	Cu	327.396	340 977.15			340 977.15	0.00	0.00
2:24:56PM	Cu	327.396	342 336.25			342 336.25	0.00	0.00
2:25:01PM	Cu	327.396	345 661.16			345 661.16	0.00	0.00
[Cu] = 0.00 mg/l			RSD: 7.35 %	Offset: 0.0098				
2:25:08PM	Ni	341.476	366 849.30			2 527.74	0.00	0.00
2:25:14PM	Ni	341.476	370 135.91			5 814.35	0.00	0.00
2:25:20PM	Ni	341.476	369 046.34			4 724.77	0.00	0.00
[Ni] = 0.00 mg/l			RSD: 76.52 %	Offset: 0.0091				

Obrázek 27: Výsledky pro vzorek 1. Nulové koncentrace Ni, Cu a Co.

Name: <b>vzorek 2</b>		Type: Analysis	#: 4	Rack: 2	Tube: 4	Weight: 1.0000	Volume: 1.00	Dilution: 1.00
WaveLength Calibration =>		Element: C	Ref.: 193.026	Calc.: 193.0106	Offset: -0.0023			
2:26:37PM	Co	228.616	55 316.54			55 316.54	0.00	0.00
2:26:42PM	Co	228.616	55 882.44			55 882.44	0.00	0.00
2:26:48PM	Co	228.616	53 727.40			53 727.40	0.00	0.00
[Co] = 0.00 mg/l			RSD: 13.28 %	Offset: 0.0022				
2:26:55PM	Cu	327.396	456 716.60			456 716.60	0.01	0.01
2:27:00PM	Cu	327.396	468 427.21			468 427.21	0.01	0.01
2:27:06PM	Cu	327.396	451 591.42			451 591.42	0.01	0.01
[Cu] = 0.01 mg/l			RSD: 5.80 %	Offset: 0.0098				
2:27:13PM	Ni	341.476	1 048 113.37			472 856.06	0.07	0.07
2:27:18PM	Ni	341.476	1 002 723.94			427 466.63	0.06	0.06
2:27:24PM	Ni	341.476	1 081 661.68			506 404.37	0.08	0.08
[Ni] = 0.07 mg/l			RSD: 8.49 %	Offset: 0.0091				

Obrázek 28: Výsledky pro vzorek 2. Cu: 0,01 mg/l, tomu odpovídá 0,16  $\mu\text{Mol}$ . Ni: 0,07 mg/l, tomu odpovídá 1,2  $\mu\text{Mol}$ .

Name: <b>vzorek 3</b>		Type: Analysis	#: 3	Rack: 2	Tube: 5	Weight: 1.0000	Volume: 1.00	Dilution: 1.00
WaveLength Calibration =>		Element: C	Ref.: 193.026	Calc.: 193.0106	Offset: -0.0030			
2:39:17PM	Co	228.616	17 574.59			17 574.59	0.00	0.00
2:39:22PM	Co	228.616	16 656.96			16 656.96	0.00	0.00
2:39:28PM	Co	228.616	17 207.29			17 207.29	0.00	0.00
[Co] = 0.00 mg/l			RSD: 12.28 %	Offset: 0.0022				
2:39:34PM	Cu	327.396	308 045.14			308 045.14	0.01	0.01
2:39:40PM	Cu	327.396	307 108.68			307 108.68	0.01	0.01
2:39:45PM	Cu	327.396	296 956.81			296 956.81	0.01	0.01
[Cu] = 0.01 mg/l			RSD: 3.18 %	Offset: 0.0098				
2:39:52PM	Ni	341.476	13 199 548.13			11 113 653.13	2.04	2.04
2:39:58PM	Ni	341.476	13 313 408.42			11 227 513.42	2.06	2.06
2:40:03PM	Ni	341.476	12 922 490.96			10 836 595.96	1.99	1.99
[Ni] = 2.03 mg/l			RSD: 1.85 %	Offset: 0.0091				

Obrázek 29: Výsledky pro vzorek 3. Cu: 0,01 mg/l, tomu odpovídá 0,16  $\mu\text{Mol}$ . Ni: 2,03 mg/l, tomu odpovídá 34  $\mu\text{Mol}$ .

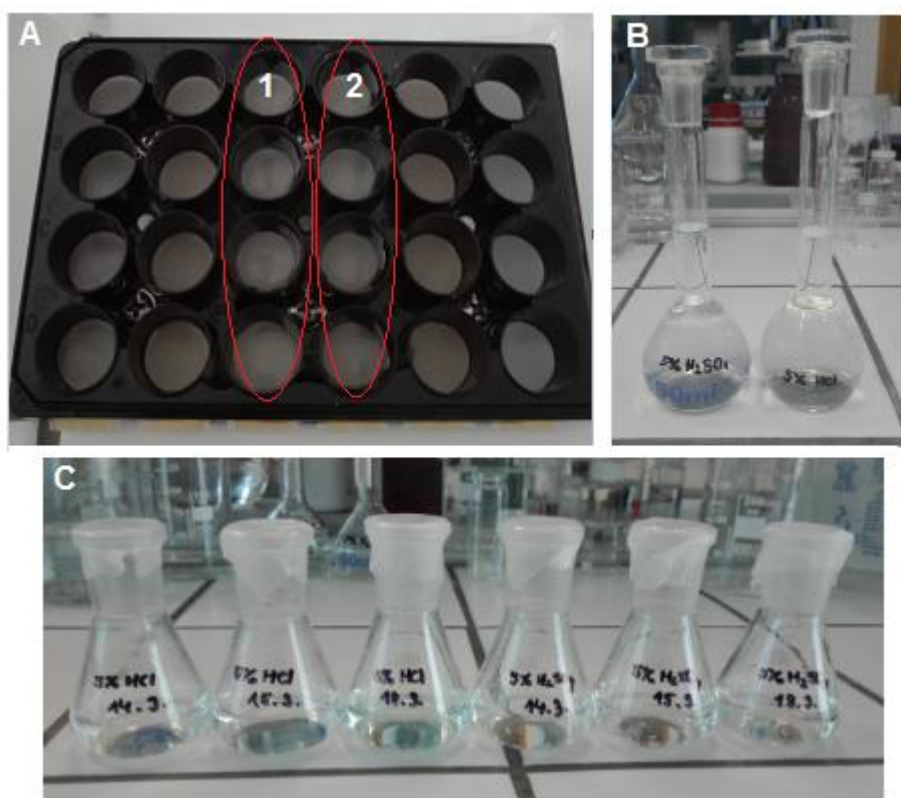
### 5.3.2 Vymývání iontů

Snahou bylo pomocí chelatačních činidel vyvázat toxické ionty kovů, přesněji nikl a měď, z pozlacené platformy. Zvolenými činidly byly zředěné kyseliny - kyselina chlorovodíková a kyselina sírová. K dispozici jsme měli 35% HCl a 96% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, které byly zředěny na 5% kyseliny. Pomocí směšovací rovnice byly vypočítány objemy pro přípravu zásobních roztoků těchto kyselin.

Na přípravu zásobního roztoku 5% HCl bylo pipetou napipetováno 43,8 ml destilované H<sub>2</sub>O do 50 ml baňky a byretou po rysku dolit zbylý objem 6,2 ml 35% HCl. Stejným způsobem byl připraven zásobní roztok pro 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přičemž 48,6 ml v 50 ml baňce představovala destilovaná voda a zbylých 1,4 ml zaujímala 96% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Obrázek 30 (B).

Každá cela byla třikrát vymývána připravenými zředěnými kyselinami. Do vyznačené řady s označením (1), Obrázek 30 (A), bylo z připraveného zásobního roztoku kyseliny sírové pipetou odebráno 2,5 ml a posléze toto množství převedeno do každé ze čtyř cel. Stejným způsobem se zaplnila i vedlejší řada cel s označením (2) kyselinou chlorovodíkovou. Platforma s roztoky se obalila parafilmem, aby nedošlo ke kontaminaci vzorků a jejich odpařování a nechala se nehybně stát na pracovní ploše do dalšího dne.

Po 24 hodinách byly roztoky vyměněny. Roztoky staré 24 hodin se kvantitativně převedly do Erlenmayerových baněk (první vymýváni), Obrázek 30 (C) a cely se opět zaplnily zředěnými kyselinami. Po dalších 24 hodinách se celý proces výměny roztoků opakoval (druhé vymýváni). Po 72 hodinách se naposledy vzorky kvantitativně převedly do Erlenmayerových baněk (třetí vymýváni). Připravené vzorky se nechaly proměřit metodou ICP-spektrometrie.



Obrázek 30: (A) Zalité cely platformy chelatačním činidlem. (1) Vymýváni kovů zředěnou 5% HCl, (2) vymýváni kovů zředěnou 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. (B) Zásobní roztoky zředěných kyselin. (C) Vzorky kyselin po prvním, druhém a třetím vymýváni.

Analýzou prováděnou metodou ICP-spektrometrie byly získány koncentrace vylouhovaných iontů kovů. Pozlacená platforma byla třikrát vymývána zředěnými kyselinami, jejichž úkolem bylo vyvázat kovy mědi a niklu, které difundovaly přes zlatou vrstvu do roztoku PBS. Tyto kovy jsme se snažili odstranit z pozlacené platformy, protože

právě tyto rozpuštěné kovy jsou toxické pro buňky kultivované v celách platformy. Důvodem našeho snažení bylo získat biokompatibilní platformu, která by byla nezávadná pro buňky.

Vzorky s označením 2-4, Obrázek 31, byly vymývány zředěnou kyselinou chlorovodíkovou. Vzorek 2 obsahoval vymyté ionty po prvních 24 hodinách. Kobalt se v roztoku HCl po prvních 24 hodinách nevyloučil žádný, niklu se uvolnilo 0,37 mg/l a mědi 0,68 mg/l. Po dalších 24 hodinách, vzorek 3, se z platformy uvolnilo dalších 0,20 mg/l niklu a 0,58 mg/l mědi. Po dalších 72 hodinách louhování platformy v kyselině chlorovodíkové se uvolnilo dodatečných 1,07 mg/l mědi a 2,37 mg/l niklu. Nicméně poslední vymývání mělo za následek poškození pozlacených interdigitálních elektrod platformy, která byla nenávratně zničena. Zlatá vrstva na některých místech elektrod chyběla a byla vidět až spodní vrstva mědi, která byla vlivem kyseliny chlorovodíkové zkorodována.

Sample: 2

Method: Odpadni vody\_optim\_Hum

Measured: 04.04.2019 11:54

W: 1.000

V: 1.000

D: 1.000

LineName	Net Intensity	Cc in solution	Cc in sample	SD	Method unit	RSD, %
Co 228.616	107 029.717	0.004	0.004	0.00	mg/l	38.18
Cu 327.396	56 721 320.304	68.300 X	68.300	0.68	mg/l	0.99
Ni 341.476	12 387 126.465	17.956 X	17.956	0.39	mg/l	2.15

---

Sample: 3

Method: Odpadni vody\_optim\_Hum

Measured: 04.04.2019 11:56

W: 1.000

V: 1.000

D: 1.000

LineName	Net Intensity	Cc in solution	Cc in sample	SD	Method unit	RSD, %
Co 228.616	109 934.546	0.006	0.006	0.00	mg/l	13.16
Cu 327.396	64 030 633.557	77.136 X	77.136	0.58	mg/l	0.75
Ni 341.476	20 044 321.297	29.740 X	29.740	0.20	mg/l	0.67

---

Sample: 4

Method: Odpadni vody\_optim\_Hum

Measured: 04.04.2019 11:58

W: 1.000

V: 1.000

D: 1.000

LineName	Net Intensity	Cc in solution	Cc in sample	SD	Method unit	RSD, %
Co 228.616	169 982.777	0.037	0.037	0.00	mg/l	4.28
Cu 327.396	369 178 995.805 S	446.042 S	446.042	1.07	mg/l	0.24
Ni 341.476	82 127 946.007	125.283 X	125.283	2.37	mg/l	1.89

Obrázek 31: Vzorky rozpuštěných iontů kovů pozlacené platformy vymývané zředěnou kyselinou chlorovodíkovou. První vymývání trvající 24 hodin - vzorek 2. Druhé vymývání trvající 24 hodin - vzorek 3. Třetí vymývání trvající 72 hodin - vzorek 4.

Vzorky s označením 6-8, Obrázek 32, byly vymývány zředěnou kyselinou sírovou. Vzorek 6 po prvním vymytí, respektive 24 hodinách opět neobsahoval žádnou koncentraci kobaltu a navíc se nevyloučila ani měď. Naopak niklu se uvolnilo 1,04 mg/l, což je pětkrát více, než při použití HCl. Po dalších 24 hodinách se uvolnilo 0,67 mg/l a po třetím vymytí, po 72 hodinách byla vyloučená koncentrace niklu 1,15 mg/l.



<u>Sample:</u> 6		<u>Method:</u> Odpadni vody_optim_Hum		<u>Measured:</u> 04.04.2019 12:02		
		W: 1.000	V: 1.000	D: 1.000		
<u>LineName</u>	<u>Net Intensity</u>	<u>Cc in solution</u>	<u>Cc in sample</u>	<u>SD</u>	<u>Method unit</u>	<u>RSD, %</u>
Co 228.616	113 209.952	0.007	0.007	0.00	mg/l	7.13
Cu 327.396	267 455.274	0.050	0.050	0.00	mg/l	4.72
Ni 341.476	22 025 025.149	32.788 X	32.788	1.04	mg/l	3.18

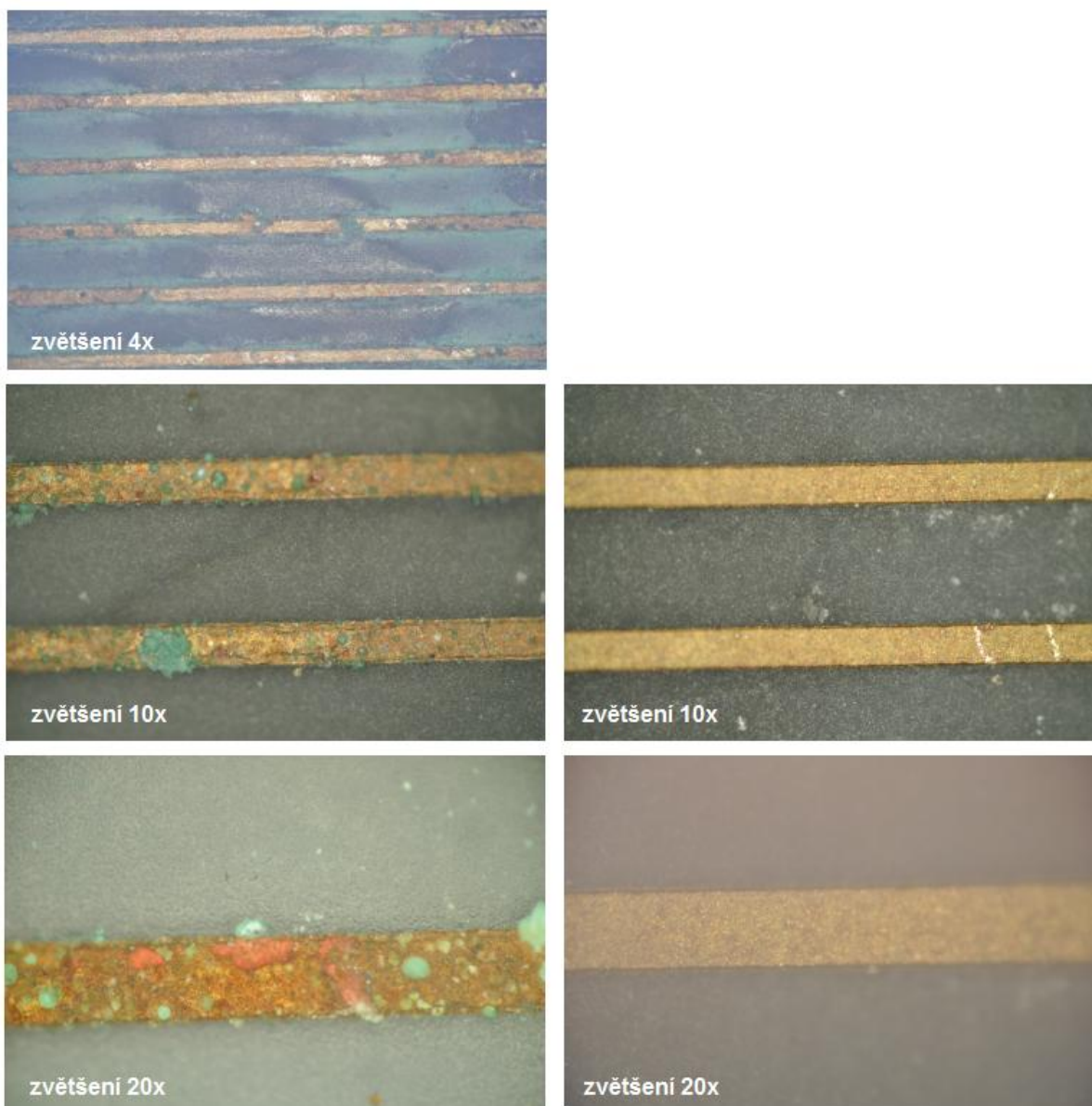
<u>Sample:</u> 7		<u>Method:</u> Odpadni vody_optim_Hum		<u>Measured:</u> 04.04.2019 12:05		
		W: 1.000	V: 1.000	D: 1.000		
<u>LineName</u>	<u>Net Intensity</u>	<u>Cc in solution</u>	<u>Cc in sample</u>	<u>SD</u>	<u>Method unit</u>	<u>RSD, %</u>
Co 228.616	116 877.285	0.009	0.009	0.00	mg/l	11.53
Cu 327.396	230 472.247	0.006 C	0.006	0.00	mg/l	49.36
Ni 341.476	29 121 536.191	43.709 X	43.709	0.67	mg/l	1.54

<u>Sample:</u> 8		<u>Method:</u> Odpadni vody_optim_Hum		<u>Measured:</u> 04.04.2019 12:07		
		W: 1.000	V: 1.000	D: 1.000		
<u>LineName</u>	<u>Net Intensity</u>	<u>Cc in solution</u>	<u>Cc in sample</u>	<u>SD</u>	<u>Method unit</u>	<u>RSD, %</u>
Co 228.616	150 229.429	0.026	0.026	0.00	mg/l	5.62
Cu 327.396	462 857.334	0.286	0.286	0.00	mg/l	0.78
Ni 341.476	69 245 975.486	105.458 X	105.458	1.15	mg/l	1.09

Obrázek 32: Vzorky rozpuštěných iontů kovů pozlacené platformy vymývané zředěnou kyselinou sírovou. První vymývání trvající 24 hodin - vzorek 6. Druhé vymývání trvající 24 hodin - vzorek 7. Třetí vymývání trvající 72 hodin - vzorek 8.

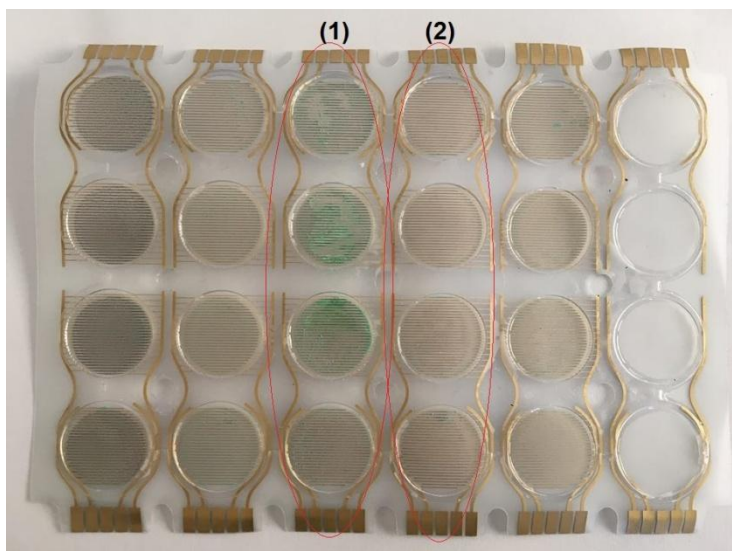
Jelikož použitá platforma s pozlacenými interdigitálními elektrodami uvolňovala kovy do kultivačního pufru PBS, bylo zapotřebí množství koncentrace těchto kovů, které jsou toxické pro buňky, snížit. Proto snahou tohoto měření bylo cílit na snížení koncentrace kovů pomocí zředěných kyselin, a tím dosáhnout biokompatibilní platformy, což se nestalo. Výsledky poukázaly na fakt, že ani jeden z použitých zředěných roztoků nebyl vhodný. Při vymývání kyselinou chlorovodíkovou byla nenávratně zničena platforma a při vymývání kyselinou sírovou se nevylučovala měď, což je jeden z kovů, který je toxický pro buňky.

Obrázek 34 poukazuje na substrát, který byl vyjmut ze zkompleťované platformy. Na první pohled je zřetelné, že část pozlacených elektrod platformy nemá ani původní vzhled, ani původní strukturu. Jak již bylo zmíněno, pozlacená platforma je tvořena vrstvou mědi, na které je galvanicky nanášena tenká vrstva zlata, a tyto dvě vrstvy jsou spojené mezivrstvou niklu pro lepší adhezi. Na Obrázek 33 jsou snímky pozlacených elektrod vyfočené přes optický mikroskop s postupným přiblížením až na samotnou pozlacenou kontaktní plošku. Nalevo jsou snímky pozlacených elektrod, jejichž původní vzhled a funkce byla poničena zředěnou kyselinou chlorovodíkovou. Na posledním snímku v řadě s přiblížením až na samotnou pozlacenou kontaktní plošku je vidět, že zlatá vrstva není celistvá po celé ploše elektrody a na některých místech elektrody jsou vidět místa nejspodnější vrstvy mědi. Napravo jsou pořízené snímky pozlacených elektrod vymývané zředěnou kyselinou sírovou, která na rozdíl od kyseliny chlorovodíkové nepoškodila povrch pozlacených elektrod.



*Obrázek 33: Snímky pozlacené platformy po vymývání iontů kyselinou chlorovodíkovou a kyselinou sírovou. Nalevo jsou pozlacené interdigitální elektrody po vymývání HCl a napravo jsou elektrody vymývané  $H_2SO_4$ .*

O míře poškození elektrod jsme se přesvědčili, když jsme následně změřili jejich odpor. Pozlacené elektrody vymývané kyselinou sírovou měly odpor  $0,5\ \Omega$ , zatímco hodnoty odporu pozlacených elektrod vymývané kyselinou chlorovodíkovou měly odpory v rozmezí desítek až stovek  $\Omega$ . Čili odpor pozlacených elektrod po louhování v kyselině chlorovodíkové narostl až o 3 řády.



*Obrázek 34: Vzhled substrátu s interdigitálními elektrodami po vymývání zředěnými roztoky. (1) Část substrátu s pozlacenými interdigitálními elektrodami vymývané kyselinou chlorovodíkovou a (2) pozlacené interdigitální elektrody vymývané kyselinou sírovou.*

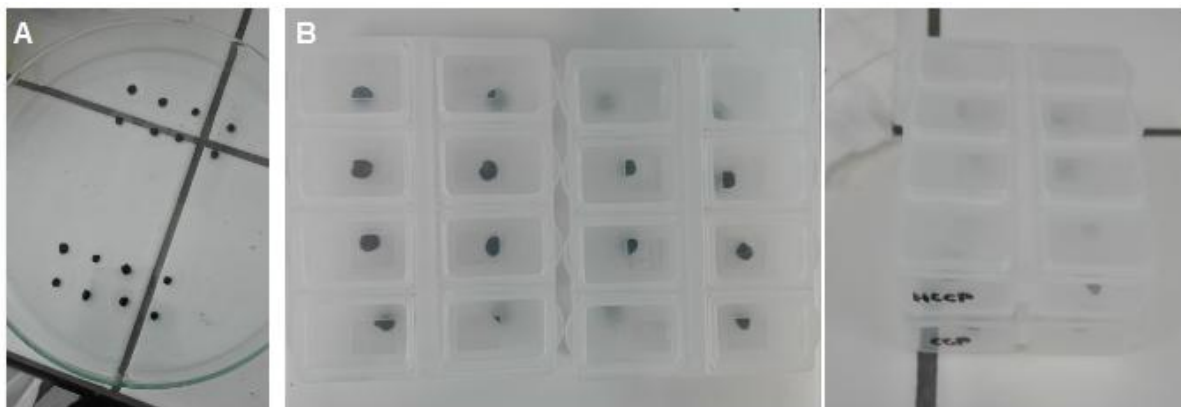
## 5.4 Platforma s uhlíkovými elektrodami

Dva základní parametry nezbytné pro správný chod vyrobených prototypů senzorů jsou dostatečná vodivost a biokompatibilita. U platformy se stříbrnými elektrodami byla biokompatibilita stříbrné pasty v pořádku, avšak elektrický obvod nikoli. U pozlacené platformy vyrobené na zakázku tomu bylo přesně naopak. Elektrický obvod byl v pořádku, ale pozlacená platforma nebyla biokompatibilní. Otázkou je, jestli bude třetí typ prototypu založený na platformě z uhlíkové pasty schopen těmto podmínkám vyhovět.

### 5.4.1 Test biokompatibility uhlíkových past

Biokompatibilita je důležitý parametr materiálu, který přichází do styku s živou tkání či buněčnou kulturou. Obecně je možno říct, že biokompatibilní materiál je takový, který v živém systému nevyvolává negativní reakci. Příkladem testů může být stanovení přichycení buněk na různě modifikované povrchy nebo stanovení vlivu samotného materiálu či z něj uvolňovaných látek na proliferaci buněk.

Testování bylo prováděno za účelem stanovení biokompatibility dvou vybraných uhlíkových past Heat Curable Carbon Paste a Conductive Carbon Paint. Na neklouzavém povrchu bylo sklíčko přidrženo pinzetou a pomocí vatové tyčinky byla na jeho povrchu vytvořena tenká vrstva uhlíkové pasty Obrázek 35 (A). Pro každou z past bylo připraveno 8 vzorků. Všechny 16 sklíček potřených uhlíkovou pastou bylo vloženo na Petriho misku a nechaly se při teplotě 150 °C po dobu 60 minut vytvrdit. Připravená sklíčka byla vložena do plastových přihrádek a předána k analýze na test MTT, Obrázek 35 (B).



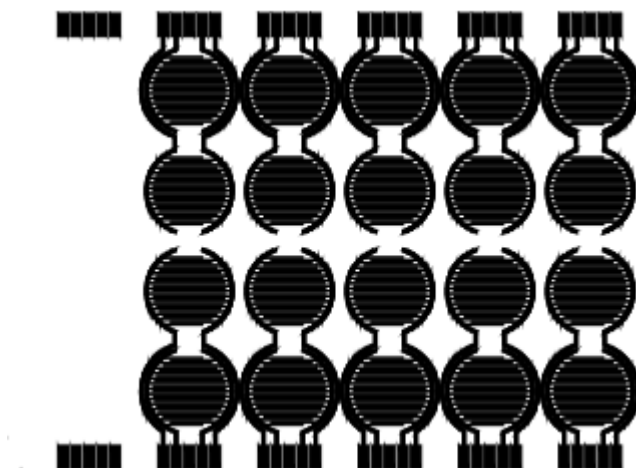
Obrázek 35: (A) Sklíčka potřená uhlíkovou pastou. (B) Vzorky Heat Curable Carbon Paste a Conductive Carbon Paint uložené v plastových přihrádkách a připravené k analýze.

#### 5.4.2 MTT test

Je kalorimetrický test určený pro hodnocení buněčné metabolické aktivity. U této metody dochází pomocí redukčních činidel k redukci žluté terazoliové soli MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-difenyyl tetrazolium bromid) na purpurově nerozpustný formazan. Po přidání silného detergentu se formazan rozpustí. Stupeň zbarvení roztoku se vyhodnocuje spektrometricky při vlnové délce 570 nm. Míra absorpce je přímo úměrná množství živých buněk, respektive čím vyšší absorbance, tím vyšší je procento živých buněk [42].

Z analýzy bylo zjištěno, že oba vzorky uhlíkových past jsou biokompatibilní.

Na základě pozitivních výsledků testu biokompatibility uhlíkových past byl vytvořen návrh nového síta s propustností 130 F (Obrázek 36).



Obrázek 36: Návrh síta 130 F pro tisk uhlíkovou pastou.

## 6 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá přípravou elektrofyziologických biosenzorů pro monitorování a elektrickou stimulaci buněčných kultur. Biosenzory jsou navrženy za účelem řízené proliferace a diferenciaci kmenových buněk žadaným směrem. Prototypy snímačů na bázi organických polovodičů jsou vyráběny metodou sítotisku. Navržená platforma má být určena k testování cytotoxicity chemických látek a potenciálních léčiv, zejména na srdečních buňkách (kardiomyocytech).

Práce se skládá z teoretické a experimentální části. Teoretická část pojednává o elektrofyziologii kardiomyocytů, o mikroelektrodových polích, jakožto aktivní součásti zařízení schopného stimulace elektrickými pulzy a o vhodných tiskových vodivých inkoustech. Nechybí taky popis sítotisku coby metody materiálového tisku využité pro námi připravované prototypy stimulačních platform. Experimentální část je věnována výrobním postupům platform s 24-mi jednotlivými senzory seřazenými v šesti řadách po čtyřech senzorech tištěné na substrát PEN fólie. Platformy byly připravované v laboratoři. Experimentální část je členěna na tři celky popisující postup přípravy každého prototypu platformy.

Prvním prototypem platformy byla platforma se stříbrnými elektrodami. Tento planární prototyp využíval elektrodový systém natištěný stříbrným inkoustem a polovodivým PEDOTem:PSS na PEN fólii. Při výrobě jsme zjistili, že použitý elektrolyt PBS byl mnohonásobně vodivější než PEDOTové prsty. Plošný odpor PEDOTu:PSS byl  $3 \text{ k}\Omega/\square$  a elektrolyt PBS měl  $0,5 \text{ }\Omega/\square$ , takže elektrolyt měl o čtyři řády nižší plošný odpor než prsty z PEDOTu. Elektrickým zařízením tak neprocházel téměř žádný proud a limitujícím parametrem platformy se stala její nízká vodivost.

Druhým navrženým prototypem byla platforma s pozlacenými interdigitálními elektrodami, která měla odstranit problém s nízkou vodivostí. Základem platformy byl flexibilní substrát PEN fólie s tloušťkou filmu  $50 \text{ }\mu\text{m}$ , na které byla nalaminovaná vrstva  $17 \text{ }\mu\text{m}$  mědi. Na tento substrát byla na zakázku galvanicky nanесena tenká vrstva zlata s tloušťkou  $1 \text{ }\mu\text{m}$ . Mezivrstva byla tvořena tenkou vrstvou niklu o tloušťce  $5 \text{ }\mu\text{m}$ , která sloužila pro zlepšení adheze vrstvy mědi se zlatem. Při zaplnění senzorických cel platformy kultivačním puforem PBS se do roztoku vylučovaly značné koncentrace iontů kovů niklu a mědi, které difundovaly přes vrstvu zlata i PEDOTu:PSS až do roztoku PBS. To mělo negativní dopad na kultivované buněčné kultury, pro které jsou tyto kovy toxické. Snahou bylo radikálně snížit koncentraci vyloučených kovů z pozlacené platformy a to za použití chelatačních činidel. Pro tento účel byly použity zředěné kyseliny, a to kyselina sírová a kyselina chlorovodíková. Důvodem našeho snažení bylo získat biokompatibilní platformu, která by byla nezávadná pro buňky.

Platforma byla vymyta zředěnými kyselinami celkově třikrát. Ani poté výsledky nebyly uspokojivé. Cely senzorů vymývané kyselinou chlorovodíkovou nenávratně poškodily pozlacené interdigitální elektrody platformy. Tomu odpovídal i naměřený odpor, který se po vymývání navýšil až o tři řády. Ani vymývání kyselinou sírovou se neukázalo jako vhodná cesta k dosažení úspěchu. Kyselina sice nenarušila strukturu tištěných spojů, ale nevymývala měď, což je jeden z kovů, který je toxický pro buňky.

Další postup práce byl zaměřen na návrh třetího prototypu za použití uhlíkové pasty. Test biokompatibility uhlíkových past vedl k pozitivnímu výsledku. Avšak omezující parametr uhlíkové pasty je její plošný odpor s hodnotou  $7,5 \Omega/\square$ , který je na hraně použitelnosti, neboť se svou hodnotou blíží hodnotě měrného odporu pufu PBS. Čili ani poslední navržená platforma nevedla k zdárnému výsledku.

Snaha dosáhnout funkční platformy navržené za účelem řízené proliferace a diferenciaci kmenových buněk žadáním směrem se na základě našich výsledků ukázala jako neúspěšná. K úspěšné realizaci jsou nezbytné parametry jako dostatečná vodivost a biokompatibilita.

U platformy se stříbrnými tištěnými spoji byla biokompatibilita použité pasty v pořádku, avšak elektrický obvod nikoli. Stejně tomu bylo i u platformy s použitím uhlíkové pasty. U pozlacené platformy s interdigitálními elektrodami byla situace opačná. Použitá pasta byla dostatečně vodivá, ale pozlacená platforma nebyla biokompatibilní.

Získané poznatky mohou být použity při dalších studiích rozšiřujících poznatky pro návrh nové verze biosenzorů. Vodivost a biokompatibilita je závislá na použitém materiálu. Je zřejmé, že pro úspěšné dokončení optimalizace a vývoje platformy by vhodnou volbou mohlo být použití ryze zlata metodou napaření nebo metodou síťotisku. Další možnou cestou je použití metody litografie, přičemž se zamaskují zlaté spoje, aby nedošlo ke kontaktu s PBS. Stálo by za zvážení i použití stříbra za použití metody fólitolografie.



## 7 ZDROJE

- [1] JOYCELYN, K.Yip a L.McCain MEGAN. *Microfluidic Cell Culture Systems (Second Edition): Chapter 8 - Cardiac tissue models*[online]. 2018, , 209-248 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813671-3.00008-6>
- [2] THOMAS, Thomas, Karl-Heinz BOVEN, Elke GÜNTHER a Michael FEJTL. *Drug Safety: Micro-Electrode Arrays in Cardiac Safety Pharmacology* [online]. 2004, , 763-772 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.2165%2F00002018-200427110-00002>
- [3] FLEISCHER, Stephan, Heinz-Georg JAHNKE, Enrico FRITSCHKE, Mathilde GIRARD a Andrea A. ANDREA A.ROBITZKI. *Biosensors and Bioelectronics: Comprehensive human stem cell differentiation in a 2D and 3D mode to cardiomyocytes for long-term cultivation and multiparametric monitoring on a multimodal microelectrode array setup* [online]. 2018, , 624-631 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.10.061>
- [4] SESSOLO, Michele, Marc RAMUZ, George G. MALLIARAS a Róisín M. RÓISÍN M. OWENS. *Handbook of bioelektronics: Chapter 11 - Cell-array biosensors* [online]. 2015, , 137-154 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.10.061>
- [5] *Khan Academy: Science: Health and medicine: Advanced circulatory system physiology: Heart depolarization: Action potentials in pacemaker cells* [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://www.khanacademy.org/science/health-and-medicine/circulatory-system/heart-depolarization/v/action-potentials-in-pacemaker-cells>
- [6] *Khan Academy: Science: Health and medicine: Advanced circulatory system physiology: Heart depolarization: Action potentials in cardiac myocytes* [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://www.khanacademy.org/science/health-and-medicine/circulatory-system/heart-depolarization/v/action-potentials-in-cardiac-myocytes>
- [7] KUBÁČEK, S. *Simulace elektrofyzilogických experimentů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2011. 61 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Milan Rychtárik
- [8] *Three types of standard multi-microelectrode arrays (MEAs)*. [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Three-types-of-standard-multi-microelectrode-arrays-MEAs-A-The-planar-MEA60-biochip\\_fig1\\_230569017](https://www.researchgate.net/figure/Three-types-of-standard-multi-microelectrode-arrays-MEAs-A-The-planar-MEA60-biochip_fig1_230569017)
- [9] NAG, Sudip, Dinesh SHARMA a Nitish V. THAKOR. *Handbook of bioelektronics: Chapter 30 - Electrical stimulation* [online]. 2015, , 365-378 [cit. 2019-04-23].
- [10] EITAN, R, R EITAN R, MARMOR O, O MARMOR, A LAVI, E LINETZKY, H BERGMAN a Z RAMIREZ DE NORIEGA. Constant Current versus Constant Voltage Subthalamic Nucleus Deep Brain Stimulation in Parkinson's Disease. [online]. 2015, , 114-121 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2572122>
- [11] LIAO, Caizhi a Feng YAN. *Organic Semiconductors in Organic Thin-Film TransistorBased Chemical and Biological Sensors*. *Polymer Reviews*. 2013, 53(3),

- 352-406. DOI: 10.1080/15583724.2013.808665. ISSN 1558-3724. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15583724.2013.808665>
- [12] BRÜTTING, Wolfgang., Chihaya. ADACHI a Russell James Delmar HOLMES. *Physics of organic semiconductors*. 2nd completely new rev. ed. ISBN 978-3-527-41053-8.
- [13] KOTAS, Jakub. *Elektricky vodivé organické sloučeniny*. Plzeň, 2013. Bakalářská práce. Západočeská Univerzita v Plzni Fakulta elektrotechnická. Vedoucí práce Ing. Silvan Pretl.
- [14] *Ilustrovaný glosář organické chemie* [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: [http://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/H/homo\\_lumo\\_gap.html](http://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/H/homo_lumo_gap.html)
- [15] EHLICH, J. *Optimalizace tiskových metod přípravy organických polovodivých vrstev*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 60 s.
- [16] NEŠPŮREK, Stanislav a Miloš A MILOŠ MATYÁŠ. *Pokroky matematiky, fyziky a astronomie: Elektroaktivní organické materiály* [online]. 2006, , 31-50 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: [https://dml.cz/bitstream/handle/10338.dmlcz/141298/PokrokyMFA\\_51-2006-1\\_5.pdf](https://dml.cz/bitstream/handle/10338.dmlcz/141298/PokrokyMFA_51-2006-1_5.pdf)
- [17] HEMPEL, Felix, Jessica Ka-Yan LAW, Thanh Chien NGUYEN, et al. PEDOT: PSS organic electrochemical transistor arrays for extracellular electrophysiological sensing of cardiac cells. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016, , -. DOI: 10.1016/j.bios.2016.09.047. ISSN 09565663. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566316309320>
- [18] GROENENDAAL, L., F. JONAS, D. FREITAG, H. PIELARTZIK a J. R. REYNOLDS. *Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and Its Derivatives: Past, Present, and Future*. *Advanced Materials*. 2000, vol. 12, issue 7, s. 481-494. DOI: 10.1002/(sici)1521-4095(200004)12:73.3.co;2-3.
- [19] KAWAHARA, Jun, Peter Andersson ERSMAN, Kazuya KATOH a Magnus BERGGREN. Fast-Switching Printed Organic Electrochemical Transistors Including Electronic Vias Through Plastic and Paper Substrates. *IEEE Transactions on Electron Devices* [online]. 2013, 60(6), 2052-2056 [cit. 2019-04-23]. DOI: 10.1109/TED.2013.2258923. ISSN 0018-9383.
- [20] CARRARA, Sandro a Krzysztof INIEWSKI. *Handbook of bioelectronics: directly interfacing electronics and biological systems*. 2015. ISBN 978-110-7040-830.
- [21] BASIRICÒ, Laura. *Inkjet printing of organic transistor devices*. 2012. PhD Thesis. Ph. D. thesis, Electronic and Computer Engineering Department of Electrical and Electronic Engineering, University of Cagliari.
- [22] ŠRÁMEK, Jan. *Výběr vhodného polymerního materiálu pro laboratorní přípravu vodivých uhlíkových inkoustů*. Pardubice, 2017. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice fakulta chemicko-technologická. Vedoucí práce Ing Milan Sýs, PhD.
- [23] GEIM, A.K. *Graphene: Status and Prospects*. *CREATIVEMATERIALS* [online]. 2017, 34(324), 1530-1534 [cit. 2019-04-23]. DOI: 10.1126/science.1158877. ISSN 1095-9203. Dostupné z: <http://science.sciencemag.org/content/324/5934/1530.long>
- [24] *Conductive Silver Inks*. *CREATIVEMATERIALS* [online]. 2017, 2017(1), 1-1 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <http://www.creativematerials.com/products/silver-inks/>



- [25] *Biosensors and Bioelectronics: Immobilisation of DNA to polymerised SU-8 photoresist* [online]. 2006, , 1327-1333 [cit. 2019-04-23]. DOI: 10.1016/j.bios.2005.03.004. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566305000837>
- [26] GELORME, Jeffrey, Robert COX a Sergio GUTIERREZ. *Photoresist composition and printed circuit boards and packages made therewith*. USA. US4882245A. Zapsáno 21.11.1989.
- [27] ARSCOTT, Steve. *SU-8 as a material for lab-on-a-chip-based mass spectrometry. Lab on a Chip* [online]. 2014, 14(19) [cit. 2019-01-10]. DOI: 10.1039/C4LC00617H. ISSN 1473-0197.
- [28] NEMANI, Krishnamurthy V., Karen L. MOODIE, Jeoffry B. BRENNICK, Alison SU a Barjor GIMI. *In vitro and in vivo evaluation of SU-8 biocompatibility*. Materials Science and Engineering: C [online]. 2013, 33(7), 4453-4459 [cit. 2019-01-10]. DOI: 10.1016/j.msec.2013.07.001. ISSN 09284931.
- [29] *SU-8 photoresist* [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/SU-8\\_photoresist](https://en.wikipedia.org/wiki/SU-8_photoresist)
- [30] KLAUS, Milan. *DPS elektronika od A do Z: Jak se vyrábí tištěná elektronika* [online]. 2013 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://www.dps-az.cz/vyroba/id:3140/jak-se-vyrabi-tistena-elektronika>
- [31] SOUKUP, R., A. HAMACEK a J. REBOUN. *Advanced screen printing for the fabrication of organic humidity sensors*. 2012 4th Electronic System-Integration Technology Conference. IEEE, 2012, s. 1-5. DOI: 10.1109/ESTC.2012.6542183. Dostupné z: <http://ieeexplore.ieee.org/lpdocs/epic03/wrapper.htm?arnumber=6542183>
- [32] *SunChemical: SCREEN PRINTING FOR THE INDUSTRIAL USER* [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: [http://www.gwent.org/gem\\_screen\\_printing.html](http://www.gwent.org/gem_screen_printing.html)
- [33] ZAOUK, Rabih, Benjamin Y. PARK a Marc J. MADOU. *Introduction to Microfabrication Techniques. Microfluidic Techniques* [online]. New Jersey: Humana Press, 2005, , 3-16 [cit. 2019-01-10]. DOI: 10.1385/1-59259-997-4:3. ISBN 1-59259997-4.
- [34] *Photolithography* [online]. , 1-4 [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: [https://static1.squarespace.com/static/57b26cc76b8f5b7524bf9ed2/t/57f97113725e25a7b5dd0907/1475965203340/Photolithography\\_Lessons\\_0.pdf](https://static1.squarespace.com/static/57b26cc76b8f5b7524bf9ed2/t/57f97113725e25a7b5dd0907/1475965203340/Photolithography_Lessons_0.pdf)
- [35] *Photoresist* [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Photoresist>
- [36] *What is Photolithography?* [online]. [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <http://www.tech-faq.com/photolithography.html>
- [37] EHLICH, J. *Příprava organických elektrochemických tranzistorů pro biosenzoriku*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 48 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Ota Salyk, CSc.
- [38] AUGUSTYN, Adam. *Polyethylene terephthalate* [online]. [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/polyethylene-terephthalate>
- [39] *Polyethylene terephthalate* [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Polyethylene\\_terephthalate.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Polyethylene_terephthalate.svg)

- [40] *Polyethylene naphthalate* [online]. In: . [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <https://www.chegg.com/homework-help/based-condensed-structural-formula-repeat-unit-poly-ethylene-chapter-10-problem-46ap-solution-9781292104591-exc>
- [41] DULBECCO, R. PLAQUE FORMATION AND ISOLATION OF PURE LINES WITH POLIOMYELITIS VIRUSES. *Journal of Experimental Medicine* [online]. 1954, 99(2), 167-182 [cit. 2019-01-10]. DOI: 10.1084/jem.99.2.167. ISSN 0022-1007.
- [42] HUGHES, David a Huseyin MEHMET. *Cell Proliferation and Apoptosis*. S.l.: Garland Science, 2003. ISBN 0203495861.
- [43] EKG & Arytmológia: Základná EKG krivka - QT interval [online]. In: . [cit. 2019-05-08]. Dostupné z: <https://www.techmed.sk/qt-interval/>

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

HiPSC	Human Induced Pluripotent Stem Cells (lidské indukované pluripotentní kmenové buňky)
MEA	Micro Electrode Array (mikroelektrodová pole)
SNR	Signal to Noise Ratio (poměr signál-šum)
EKG	Electrocardiogram (elektrokardiogram)
QT interval	Interval srdečního cyklu - doba depolarizace a repolarizace komor
IDE	Interdigital electrode (interdigitální elektroda)
PEDOT	Poly(3,4-ethylenedioxythiofen)
PSS	Polystyrensulfonyl
PEDOT:PSS	Polovodivý materiál
NTCDA	1,4,5,8-Naphtalenetetracarboxylic dianhydride
P3HT	Poly(3-hexylthiophene-2,5-diyl)
DDFTTF	5,5'-bis(7-dodecyl-9H-fluoren-2-yl)-2,2'-bithiophene
CC	Constant Current (konstatní proud)
CV	Constant Voltage (konstatní napětí)
DMSO	dimethylsulfoxid
DMF	N,N-dimethylformamid
CuPc	Copper(II) phthalocyanine
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
SOMO	Singly Occupied Molecular Orbital
$E_v$	Valenční pás
$E_c$	Vodivostní pás
$E_g$	Zakázaný pás
EF	Ferniho hladina
SSH	Su-Schrieffer-Heegerův model
$\sigma$	nosič náboje
$q$	volný náboj
$n$	koncentrace nosičů
$\mu$	mobilit
$F$	intenzita elektrického pole
MEMS	MicroElectroMechanical Systems
PET	Polyethylene terephthalate (Polyethylentereftalát)
PEN	Polyethylene naphthalate (Polyethylennaftalát)
$F$	hustota síta
$\rho$	měrný odpor
$\sigma$	konduktivita
PBS	Phosphate Buffered Saline
HCl	kyselina chlorovodíková
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	kyselina sírová